**Tehtävän numero 0**

Tässä tehtävässä sinulle annetaan luettelo numeroita, ja sinun on löydettävä luettelon keskiarvo. Luettelon keskiarvo saadaan laskemalla yhteen kaikki luettelon luvut ja jakamalla tulos luettelon koolla. Tulos on pyöristettävä kolmeen desimaaliin.

**Esimerkki 0.0**

[21.953, 12.71, -60.022, 17.165, 98.53, 87.71, 92.772, 179.216, -40.505]

**Tulos**

45.503

**Esimerkki 0.1**

[-12.512, 202.863, 245.968, 149.378, -14.053, 144.326, 109.52]

**Tulos**

117.927

**Esimerkki 0.2**

[236.81, -48.495, -89.669, -95.35, 167.541, 233.959, -62.852]

**Tulos**

48.849

**Esimerkki 0.3**

[207.165, 246.399, 44.821, -21.671]

**Tulos**

119.178

**Esimerkki 0.4**

[245.024, 55.168, 29.575, 24.761, -54.145, -70.612]

**Tulos**

38.295

**Esimerkki 0.5**

[239.875, 100.494, 190.427, 157.069, 63.337]

**Tulos**

150.24

**Esimerkki 0.6**

[43.056, -72.328, 52.653, 153.92, 185.256, 164.889, 232.024, 75.302]

**Tulos**

104.346

**Esimerkki 0.7**

[-82.17, 5.039, 69.487, 134.879, 144.363, -60.559, 108.061, -94.141, -60.823, -84.012]

**Tulos**

8.012

**Esimerkki 0.8**

[217.455, 225.012, 36.027, 182.967, 106.922]

**Tulos**

153.677

**Esimerkki 0.9**

[114.623, 127.333, 43.55, 121.203]

**Tulos**

101.677

**Esimerkki 0.10**

[105.485, 17.963, 152.841, -73.073, 56.422]

**Tulos**

51.928

**Esimerkki 0.11**

[248.93, 60.189]

**Tulos**

154.56

**Esimerkki 0.12**

[133.812, 168.822, 194.477, -28.147, -50.284, -66.742, -41.716, -98.388]

**Tulos**

26.479

**Esimerkki 0.13**

[190.653, 238.208, 116.901, 237.173, 32.607, -2.198, 191.847, 91.873, 196.114]

**Tulos**

143.686

**Esimerkki 0.14**

[-25.532, 0.441, 194.534]

**Tulos**

56.481

**Esimerkki 0.15**

[78.024, 17.922, 232.34, 191.572, -91.098, 5.456, 241.532, 146.535, 183.359, 218.778]

**Tulos**

122.442

**Esimerkki 0.16**

[170.43, 73.837, 116.36, 240.099, 178.607, -22.328, 25.505, 55.959, 39.459]

**Tulos**

97.548

**Esimerkki 0.17**

[240.825, -67.547, 60.44, 113.889, 118.184, 3.349]

**Tulos**

78.19

**Esimerkki 0.18**

[-44.572, 44.569, -58.461, 207.849, 187.27, -22.635, 112.07, -86.708]

**Tulos**

42.423

**Esimerkki 0.19**

[-65.445, 3.537, 214.879, -67.657, -10.15, 43.522, 89.312, -58.043, 143.491, -89.705]

**Tulos**

20.374

**Esimerkki 0.20**

[-4.969, 232.548, 81.586, 13.448, -85.528, -1.661, -76.971]

**Tulos**

22.636

**Esimerkki 0.21**

[-24.232, 73.397, -6.528, 238.935]

**Tulos**

70.393

**Esimerkki 0.22**

[52.077, 161.909, -69.909, 173.237]

**Tulos**

79.328

**Esimerkki 0.23**

[25.889, -89.314, 75.482, -3.462, -93.25, -60.856, 16.359]

**Tulos**

-18.45

**Esimerkki 0.24**

[38.275, -86.61, -81.682, 203.89, 171.388]

**Tulos**

49.052

**Esimerkki 0.25**

[202.409, 102.881, 14.035, -72.959, -17.121, 206.426, -57.984, 245.299, -86.478]

**Tulos**

59.612

**Esimerkki 0.26**

[-56.898, -9.484, 7.689, 205.423, 224.562, -38.588, 120.312, 92.879]

**Tulos**

68.237

**Esimerkki 0.27**

[126.801, 221.128, 190.286, -15.375]

**Tulos**

130.71

**Esimerkki 0.28**

[24.538, -63.143, -78.392, 195.006, 137.039, 107.973]

**Tulos**

53.837

**Esimerkki 0.29**

[-62.667, 70.273, -14.332, 65.006, -22.429, 180.931, -22.908, 158.395, -27.315, 154.473]

**Tulos**

47.943

**Esimerkki 0.30**

[167.364, -16.137, 6.884]

**Tulos**

52.704

**Esimerkki 0.31**

[214.305, 90.176, -95.356, 231.798, 134.836, 135.63, -43.326]

**Tulos**

95.438

**Esimerkki 0.32**

[118.727, 19.699, 205.752, 128.942, 245.772, -40.351]

**Tulos**

113.09

**Esimerkki 0.33**

[-82.069, 242.119]

**Tulos**

80.025

**Esimerkki 0.34**

[-80.848, 234.827, -60.819, -66.838, 192.396, 191.16]

**Tulos**

68.313

**Esimerkki 0.35**

[-87.756, -6.861, -76.597, -54.404, 75.598, 107.33]

**Tulos**

-7.115

**Esimerkki 0.36**

[143.402, 27.524]

**Tulos**

85.463

**Esimerkki 0.37**

[229.254, 187.875, 136.948, 178.625, 144.135, 233.043, 12.15, 98.746]

**Tulos**

152.597

**Esimerkki 0.38**

[-98.048, 21.287]

**Tulos**

-38.38

**Esimerkki 0.39**

[-38.082, -75.139, -69.27, -38.847, 93.56, -74.596, 219.283, -55.333]

**Tulos**

-4.803

**Esimerkki 0.40**

[135.21, 119.426, 244.466]

**Tulos**

166.367

**Esimerkki 0.41**

[47.768, -17.892]

**Tulos**

14.938

**Esimerkki 0.42**

[130.625, -59.059, -26.75, 84.236, 200.451, 118.614, 216.98, 236.108, 167.719]

**Tulos**

118.769

**Esimerkki 0.43**

[-87.469, -11.619, 167.352, -20.709, -24.738, 120.883, 49.157, 155.368]

**Tulos**

43.528

**Esimerkki 0.44**

[-94.823, 145.396, -61.919, 174.283, 60.137, 50.828, 171.822]

**Tulos**

63.675

**Esimerkki 0.45**

[-89.029, 245.588]

**Tulos**

78.28

**Esimerkki 0.46**

[194.758, 88.133, 200.788, 180.737, 125.39, -38.323, 223.081, -51.14, 152.078, 42.7]

**Tulos**

111.82

**Esimerkki 0.47**

[238.299, -11.287, 108.224, 18.888, -45.125]

**Tulos**

61.8

**Esimerkki 0.48**

[134.609, 165.127, 60.718, 139.76, 60.611, 186.088, 152.81, 18.065]

**Tulos**

114.724

**Esimerkki 0.49**

[124.506, -88.661]

**Tulos**

17.922

**Esimerkki 0,50**

[110.799, 16.436, -57.34, 139.423, 40.579, 66.312]

**Tulos**

52.702

**Esimerkki 0.51**

[28.203, -83.015, 53.458]

**Tulos**

-0.451

**Esimerkki 0.52**

[10.403, 237.363, 13.588, 26.673, -22.886, 38.685]

**Tulos**

50.638

**Esimerkki 0.53**

[-12.868, 221.475, 55.063, 25.342, 157.255, -32.29]

**Tulos**

68.996

**Esimerkki 0.54**

[-81.589, 130.813, 56.576, 138.889, 113.52, 227.2, 172.61, -6.932, -90.153]

**Tulos**

73.437

**Esimerkki 0.55**

[218.139, 218.393]

**Tulos**

218.266

**Esimerkki 0.56**

[-40.282, -27.106, 222.347, 79.77]

**Tulos**

58.682

**Esimerkki 0.57**

[143.954, 249.545, -45.886, 93.714, 49.46, 176.702, -95.272]

**Tulos**

81.745

**Esimerkki 0.58**

[5.703, -17.365, 21.827, 38.836, 5.17, -15.533]

**Tulos**

6.44

**Esimerkki 0.59**

[-47.853, 183.65, -32.707, 97.232, 211.586, 27.315, 185.06, 238.692]

**Tulos**

107.872

**Esimerkki 0.60**

[180.749, -19.537, 78.772, -94.27, 136.604, 90.492, 229.499, -5.276, 243.106, 85.937]

**Tulos**

92.608

**Esimerkki 0.61**

[79.713, 76.028, -73.609, -58.23, 127.184, 152.619, -78.16, 246.662, -77.533]

**Tulos**

43.853

**Esimerkki 0.62**

[83.591, 62.446, 224.145, 46.031, 248.07, 106.69]

**Tulos**

128.496

**Esimerkki 0.63**

[137.282, 188.791, 8.079, -83.468, -73.296]

**Tulos**

35.478

**Esimerkki 0.64**

[141.807, 118.173]

**Tulos**

129.99

**Esimerkki 0.65**

[5.644, -37.171, 22.684, -49.414, 214.87]

**Tulos**

31.323

**Esimerkki 0.66**

[117.198, 217.045, 10.449, 108.17, -54.738, 215.326, 4.34, 12.791]

**Tulos**

78.823

**Esimerkki 0.67**

[18.001, -18.409, 176.189]

**Tulos**

58.594

**Esimerkki 0.68**

[150.041, 41.15, -10.082, 173.527]

**Tulos**

88.659

**Esimerkki 0.69**

[218.946, 137.641, 232.578, 134.51, 112.958, -13.427, 249.648, 64.585, 180.405]

**Tulos**

146.427

**Esimerkki 0.70**

[241.77, 56.278, 200.439, 201.477, 115.583]

**Tulos**

163.109

**Esimerkki 0.71**

[-86.758, -73.21, 229.928, 127.151, 228.62, -90.768, 28.252]

**Tulos**

51.888

**Esimerkki 0.72**

[241.578, 59.676, 209.038]

**Tulos**

170.097

**Esimerkki 0.73**

[198.748, 133.89, -70.881, 69.668, 151.268, 22.54, -55.011, -2.733]

**Tulos**

55.936

**Esimerkki 0.74**

[-53.47, 66.093, 164.023, 248.27]

**Tulos**

106.229

**Esimerkki 0,75**

[235.155, 2.197, -31.301, 145.214, 119.032, 185.955]

**Tulos**

109.375

**Esimerkki 0.76**

[-92.336, -33.29, 76.403, -31.759]

**Tulos**

-20.246

**Esimerkki 0.77**

[153.141, -71.109, 231.067, -37.855]

**Tulos**

68.811

**Esimerkki 0.78**

[44.288, 229.923, -56.068]

**Tulos**

72.714

**Esimerkki 0.79**

[112.92, 86.109]

**Tulos**

99.514

**Esimerkki 0.80**

[189.685, -25.871, -52.902, -86.659]

**Tulos**

6.063

**Esimerkki 0.81**

[70.282, -54.718, 95.793, 94.043, 183.314]

**Tulos**

77.743

**Esimerkki 0.82**

[-9.355, 74.387, 197.588, 158.546, 169.913, 142.404, 9.344, 104.466, 23.51, -12.47]

**Tulos**

85.833

**Esimerkki 0.83**

[33.697, 209.242, 20.451, 82.093, 248.217, 146.229, -13.425, 24.126, 165.725, 210.947]

**Tulos**

112.73

**Esimerkki 0.84**

[242.395, -30.85, 10.764, 112.975, 135.905, 151.714, 22.596, 214.319]

**Tulos**

107.477

**Esimerkki 0.85**

[-62.174, 175.981, -24.953, -88.989, -30.185, -43.212, 21.367]

**Tulos**

-7.452

**Esimerkki 0.86**

[41.381, 177.931, -72.607, 40.545, 195.056, 140.831, 16.763, -74.56, -70.278]

**Tulos**

43.896

**Esimerkki 0.87**

[140.006, 202.125, 79.366, -16.642, 246.112]

**Tulos**

130.193

**Esimerkki 0.88**

[137.512, 157.842]

**Tulos**

147.677

**Esimerkki 0.89**

[68.694, -54.449, 117.313, 93.615]

**Tulos**

56.293

**Esimerkki 0.90**

[8.298, -94.746, -72.935]

**Tulos**

-53.128

**Esimerkki 0.91**

[-71.709, 174.193, -84.665]

**Tulos**

5.94

**Esimerkki 0.92**

[-28.86, -28.932, 8.45, -10.892, 79.215, -13.716, -16.466, -76.434, -3.226]

**Tulos**

-10.096

**Esimerkki 0.93**

[105.658, 66.801, 121.944, -30.101, 99.24, 209.57, 138.806, 246.768]

**Tulos**

119.836

**Esimerkki 0.94**

[-27.751, 64.278, -45.987, 153.077, -69.446, 234.524, 73.888, 6.085, 186.898, 231.144]

**Tulos**

80.671

**Esimerkki 0.95**

[232.883, 9.329, 1.211, 202.216, 172.909, 210.917, -70.136, -91.428, 92.194]

**Tulos**

84.455

**Esimerkki 0.96**

[153.629, 221.874, -7.177, 230.895, 68.059, -58.263, 4.986, 103.63, 202.325, 122.197]

**Tulos**

104.216

**Esimerkki 0.97**

[166.521, -48.271, 123.84, 217.273, -37.637]

**Tulos**

84.345

**Esimerkki 0.98**

[-93.962, 80.409]

**Tulos**

-6.776

**Esimerkki 0.99**

[199.153, 182.13, -7.832, -60.259]

**Tulos**

78.298

**Esimerkki 0.100**

[123.782, 49.146, 228.489, 80.807, 223.182, 125.282, 75.077, 115.863]

**Tulos**

127.703

**Esimerkki 0.101**

[65.232, 11.796, 60.475, -30.918, 141.9, 160.375, 111.587, 202.415, -61.118, 1.58]

**Tulos**

66.332

**Esimerkki 0.102**

[-65.406, -30.983, 140.816, -56.619, 168.566]

**Tulos**

31.275

**Esimerkki 0.103**

[235.869, 46.447]

**Tulos**

141.158

**Esimerkki 0.104**

[89.508, 137.402, 51.152, 7.276, 70.029, 30.036, 103.716, 91.252, 168.839, 229.114]

**Tulos**

97.832

**Esimerkki 0.105**

[224.963, 135.533, -41.923, -51.494, 28.817, 69.196, 116.938]

**Tulos**

68.861

**Esimerkki 0.106**

[5.39, 42.69, 26.401]

**Tulos**

24.827

**Esimerkki 0.107**

[-12.204, 191.67, 75.601, 160.725, -26.397, -19.227, 10.614, -21.064, 39.502]

**Tulos**

44.358

**Esimerkki 0.108**

[168.025, 192.957, 117.401, 119.658, -78.441, 189.188, 143.003]

**Tulos**

121.684

**Esimerkki 0.109**

[-59.132, 236.662, -92.207, 21.809, 29.359, 129.002, 243.128, 243.356, -63.823]

**Tulos**

76.462

**Esimerkki 0.110**

[-38.926, 223.348]

**Tulos**

92.211

**Esimerkki 0.111**

[-96.341, 77.453, 129.709, -32.339, 126.983, -59.527, -0.485]

**Tulos**

20.779

**Esimerkki 0.112**

[20.286, 145.152, -35.156, 177.192, -61.967, -25.578]

**Tulos**

36.655

**Esimerkki 0.113**

[69.468, 238.468, 129.245, 52.742, 124.256, 38.897, 7.2, 112.203]

**Tulos**

96.56

**Esimerkki 0.114**

[215.885, 62.695, 17.33, 134.458, 195.467, 190.867]

**Tulos**

136.117

**Esimerkki 0.115**

[-12.636, 107.17, 200.315, 67.156, 28.809, 241.797, 197.193, 81.53, -90.008]

**Tulos**

91.258

**Esimerkki 0.116**

[187.518, 218.708, -97.132, -6.462, 201.972, 44.28, 137.253, 109.548]

**Tulos**

99.461

**Esimerkki 0.117**

[137.543, 163.833, -74.02, 89.643, -93.579, -5.901, 16.248, 147.883]

**Tulos**

47.706

**Esimerkki 0.118**

[23.364, -12.72, 113.651, -6.767, -25.577, 174.241]

**Tulos**

44.365

**Esimerkki 0.119**

[-39.045, 1.655, 183.799, -30.501]

**Tulos**

28.977

**Esimerkki 0.120**

[172.016, -4.978, 239.077, -13.083, -71.651]

**Tulos**

64.276

**Esimerkki 0.121**

[-16.768, 0.229, 14.955, -32.161, -40.159, -81.113, 34.071]

**Tulos**

-17.278

**Esimerkki 0.122**

[225.063, -80.463, -41.674, 5.91, -48.39, 138.764, 41.167]

**Tulos**

34.34

**Esimerkki 0.123**

[54.993, -51.31, 229.558, -38.015]

**Tulos**

48.806

**Esimerkki 0.124**

[24.808, -2.481, 165.168, 181.391, -34.315, -68.797, 20.386, 2.081, 147.561]

**Tulos**

48.422

**Esimerkki 0,125**

[97.623, 222.056, 66.541]

**Tulos**

128.74

**Esimerkki 0.126**

[34.772, 69.758, 51.194, 75.304, -97.212, 214.056, 122.222, 134.099, 102.886]

**Tulos**

78.564

**Esimerkki 0.127**

[32.458, 21.603, 243.923, 13.381, 148.655, -38.201, 231.847, 71.906, -5.428, -68.618]

**Tulos**

65.153

**Esimerkki 0.128**

[-42.928, 195.224, 17.053, 181.308]

**Tulos**

87.664

**Esimerkki 0.129**

[62.942, 159.41, -92.215, 17.404, 115.108, -56.011, 228.911, 249.61]

**Tulos**

85.645

**Esimerkki 0.130**

[89.047, 195.178]

**Tulos**

142.112

**Esimerkki 0.131**

[124.963, -89.484, 8.032, 146.975, -10.09, 82.917, 182.295]

**Tulos**

63.658

**Esimerkki 0.132**

[54.181, 68.195, 123.555, 158.006, 177.509, 10.3, -89.165, 144.033, 238.952, -66.686]

**Tulos**

81.888

**Esimerkki 0.133**

[9.202, -54.035, -18.11]

**Tulos**

-20.981

**Esimerkki 0.134**

[-47.326, 201.111, 66.063, 204.227, -9.305, 124.244, 96.493]

**Tulos**

90.787

**Esimerkki 0.135**

[21.007, 48.739, -49.831, -22.699]

**Tulos**

-0.696

**Esimerkki 0.136**

[70.575, 91.094, 63.669, 246.635, 115.096, 66.774, 107.812, -7.106, 50.162, 59.612]

**Tulos**

86.432

**Esimerkki 0.137**

[-31.415, -84.329, -82.1]

**Tulos**

-65.948

**Esimerkki 0.138**

[-7.495, -19.085, 62.044, 133.407, 73.102, 123.355, 171.87]

**Tulos**

76.743

**Esimerkki 0.139**

[247.564, -65.515, 5.247, 147.124]

**Tulos**

83.605

**Esimerkki 0.140**

[119.073, 43.068, 67.848, 110.865, 248.368, 141.173, 130.342, -64.216, 60.822, -98.735]

**Tulos**

75.861

**Esimerkki 0.141**

[181.576, 65.507, -21.908, 243.853, 157.966, -97.966]

**Tulos**

88.171

**Esimerkki 0.142**

[16.184, 166.426, 176.708, 231.047, 36.47, 137.108, 56.406, -64.589, 49.302, 158.147]

**Tulos**

96.321

**Esimerkki 0.143**

[-80.516, 10.557, 143.435, -26.467]

**Tulos**

11.752

**Esimerkki 0.144**

[-35.848, 83.31, 104.03, 96.421, 5.183, 158.877, 183.703, 118.274, 98.319]

**Tulos**

90.252

**Esimerkki 0.145**

[68.799, 211.687, 209.496, 216.91, -85.425, 40.557, -40.235, 146.223, 113.474]

**Tulos**

97.943

**Esimerkki 0.146**

[243.395, -41.82, -93.746, -1.05, 185.63, 107.755, 141.745, 237.202, -42.654]

**Tulos**

81.829

**Esimerkki 0.147**

[-18.16, 80.684, -5.241, -49.209, -8.776, -87.119, 210.033]

**Tulos**

17.459

**Esimerkki 0.148**

[83.565, 143.697, 5.891, 155.304, 78.853, 230.402, -3.872, 227.728, 169.259]

**Tulos**

121.203

**Esimerkki 0.149**

[-91.46, 200.185, 182.354, -82.67, 223.393, 101.705, -43.714, -58.007]

**Tulos**

53.973

**Esimerkki 0.150**

[65.891, 157.754]

**Tulos**

111.822

**Esimerkki 0.151**

[155.467, -40.717, -24.529, -22.608, 38.752]

**Tulos**

21.273

**Esimerkki 0.152**

[110.497, 198.031, 175.949]

**Tulos**

161.492

**Esimerkki 0.153**

[203.186, -48.324, 84.872, 150.666, 217.672, 140.349, -68.885]

**Tulos**

97.077

**Esimerkki 0.154**

[177.144, 69.872]

**Tulos**

123.508

**Esimerkki 0.155**

[-81.696, 10.019]

**Tulos**

-35.838

**Esimerkki 0.156**

[210.285, -75.025, 54.459, 246.589]

**Tulos**

109.077

**Esimerkki 0.157**

[20.042, -34.805, 194.951, 100.986, -65.679, 83.11, 151.529, 129.186, -80.74, -5.566]

**Tulos**

49.301

**Esimerkki 0.158**

[211.297, 221.106, 103.417, -98.483, -16.937, -69.537]

**Tulos**

58.477

**Esimerkki 0.159**

[208.446, -78.681, -94.402, 69.076]

**Tulos**

26.11

**Esimerkki 0.160**

[232.014, -52.265]

**Tulos**

89.875

**Esimerkki 0.161**

[64.595, -45.649, -89.932, 64.731, 60.21, 110.264, 140.081, 130.128, -51.886, -50.04]

**Tulos**

33.25

**Esimerkki 0.162**

[159.027, 79.711, -28.556, 239.033, 39.983, 233.26, -82.59]

**Tulos**

91.41

**Esimerkki 0.163**

[121.474, 19.247, 219.886, 114.484, 247.174, -75.551, 50.376, 83.968, 23.265, 114.9]

**Tulos**

91.922

**Esimerkki 0.164**

[180.292, 66.876, 117.357]

**Tulos**

121.508

**Esimerkki 0.165**

[-98.163, -66.763, 149.544, -89.893, -10.155]

**Tulos**

-23.086

**Esimerkki 0.166**

[96.706, 239.918, 73.299, 68.184, 233.512, -76.407]

**Tulos**

105.869

**Esimerkki 0.167**

[50.724, -76.389, 149.544, 208.956, 224.667, 164.107, 223.808, 22.124, 89.233]

**Tulos**

117.419

**Esimerkki 0.168**

[5.85, 201.542]

**Tulos**

103.696

**Esimerkki 0.169**

[-20.976, 91.105, 135.986]

**Tulos**

68.705

**Esimerkki 0.170**

[132.338, -91.176, -50.214, 244.696, 90.308, 48.237, -28.224, 115.38]

**Tulos**

57.668

**Esimerkki 0.171**

[57.402, -70.81, 234.332]

**Tulos**

73.641

**Esimerkki 0.172**

[231.057, 71.527, 201.799, -5.17, -14.963, -35.693]

**Tulos**

74.76

**Esimerkki 0.173**

[214.695, -42.862, -1.946, 225.511, 26.729, 114.2, 162.062, 64.518, 82.952]

**Tulos**

93.984

**Esimerkki 0.174**

[192.998, -56.541, 240.398, 134.28, -45.321, -31.411, -55.46, 38.051]

**Tulos**

52.124

**Esimerkki 0.175**

[73.458, -17.127]

**Tulos**

28.166

**Esimerkki 0.176**

[111.425, 127.677, 74.853, -53.703, 223.682, 38.362, 45.692, -14.275]

**Tulos**

69.214

**Esimerkki 0.177**

[234.032, 103.686, 249.695, 238.99, 120.447, 99.697, -2.914, -2.058]

**Tulos**

130.197

**Esimerkki 0.178**

[-56.493, 247.155, 107.201, 22.722, 47.782, 172.2, -18.758]

**Tulos**

74.544

**Esimerkki 0.179**

[199.252, 232.676, 195.98, -41.546, 40.863, -24.053, 170.263, 102.065]

**Tulos**

109.438

**Esimerkki 0.180**

[143.296, -95.375, 78.537, 227.541, -13.146, 222.621]

**Tulos**

93.912

**Esimerkki 0.181**

[112.72, 131.364, 13.617]

**Tulos**

85.9

**Esimerkki 0.182**

[-49.786, 238.124, -20.697, 32.014]

**Tulos**

49.914

**Esimerkki 0.183**

[159.326, 59.023, 148.469, 6.997, 192.926, 183.291, -89.241]

**Tulos**

94.399

**Esimerkki 0.184**

[-19.267, 8.117, 222.415, -74.803]

**Tulos**

34.116

**Esimerkki 0.185**

[-58.535, 21.013, -69.721, 64.913, 126.828, 122.182, -58.45, 27.371]

**Tulos**

21.95

**Esimerkki 0.186**

[194.148, -91.187, -22.091, 68.751, 193.642, -0.082, 171.224, 12.594, -78.608]

**Tulos**

49.821

**Esimerkki 0.187**

[-77.317, 173.278, 137.614, -26.344]

**Tulos**

51.808

**Esimerkki 0.188**

[-15.279, 143.003, -7.511]

**Tulos**

40.071

**Esimerkki 0.189**

[216.778, 97.568, -38.002]

**Tulos**

92.115

**Esimerkki 0.190**

[179.839, -8.956, -55.88, -15.586]

**Tulos**

24.854

**Esimerkki 0.191**

[85.56, 37.294, 175.475, 15.73]

**Tulos**

78.515

**Esimerkki 0.192**

[183.192, 226.177, 28.219, 208.805, 213.037, 139.24, -75.96, 109.596, 64.791, 158.8]

**Tulos**

125.59

**Esimerkki 0.193**

[113.09, 196.054, 197.899]

**Tulos**

169.014

**Esimerkki 0.194**

[134.272, -35.351, -5.769, -27.357, -93.524, -78.423, 162.237, -77.72, 29.089, 127.209]

**Tulos**

13.466

**Esimerkki 0.195**

[126.318, 190.383, 196.921, -91.649, 22.683, 202.417, 226.745]

**Tulos**

124.831

**Esimerkki 0.196**

[75.258, 186.073, 192.708, 206.34]

**Tulos**

165.095

**Esimerkki 0.197**

[195.437, 144.442, 139.299, 30.48]

**Tulos**

127.414

**Esimerkki 0.198**

[-82.879, -82.239, 22.652, 207.818, 148.773, 233.502]

**Tulos**

74.604

**Esimerkki 0.199**

[76.922, -48.098, 210.122, 96.158, 168.93, 186.6, 158.967, -35.674]

**Tulos**

101.741

**Esimerkki 0.200**

[-87.576, 218.328, 199.905, 157.455, 41.44]

**Tulos**

105.91

**Esimerkki 0.201**

[-57.838, -63.616, 49.646, -45.262, 73.1, -82.399, 47.168]

**Tulos**

-11.314

**Esimerkki 0.202**

[190.313, 28.921, -91.994, 240.397, 234.751, 94.346, 110.941]

**Tulos**

115.382

**Esimerkki 0.203**

[8.265, -72.188, 183.366, 69.001, 225.978, 209.118, 124.714, 183.186]

**Tulos**

116.43

**Esimerkki 0.204**

[-94.662, 205.239, 110.714, 130.064]

**Tulos**

87.839

**Esimerkki 0.205**

[22.306, 72.768, 218.947, 52.973, 100.121, 157.59, -92.109]

**Tulos**

76.085

**Esimerkki 0.206**

[-78.769, 191.064, -17.588, 148.438, 64.931]

**Tulos**

61.615

**Esimerkki 0.207**

[195.575, 136.671, 133.954, 130.232, 72.902, 143.962, 228.458, 69.239, 137.6]

**Tulos**

138.733

**Esimerkki 0.208**

[12.253, 159.462, -79.279, 148.184, -64.425, 125.648, -87.071]

**Tulos**

30.682

**Esimerkki 0.209**

[102.961, 60.615, 165.588, 95.833, 129.047, -50.044, -45.609]

**Tulos**

65.484

**Esimerkki 0.210**

[-74.076, 43.625, -72.911]

**Tulos**

-34.454

**Esimerkki 0.211**

[-46.61, 13.102, 51.26, 130.916, 109.839]

**Tulos**

51.701

**Esimerkki 0.212**

[-32.03, 84.065, 91.512, 156.512, 78.808, 165.396, 176.764, 116.6]

**Tulos**

104.703

**Esimerkki 0.213**

[131.546, 72.942, 147.671, -11.78, 143.753, 161.505]

**Tulos**

107.606

**Esimerkki 0.214**

[213.397, 128.836, 91.588, 84.087]

**Tulos**

129.477

**Esimerkki 0.215**

[230.178, 86.499]

**Tulos**

158.338

**Esimerkki 0.216**

[105.806, 71.753, 57.545, 229.364, -49.498, 167.773, -31.267, 50.402, 64.235]

**Tulos**

74.013

**Esimerkki 0.217**

[42.432, 131.744, 232.352, 43.867]

**Tulos**

112.599

**Esimerkki 0.218**

[248.089, 9.064, -69.315, -16.093, 95.107, -73.12, 175.054, 52.865, 95.009]

**Tulos**

57.407

**Esimerkki 0.219**

[57.463, 117.862, 228.694, 221.841, 68.35, 178.129, 13.932, 240.72, 139.1]

**Tulos**

140.677

**Esimerkki 0.220**

[168.123, 82.675, -4.577, 138.124, -4.057, 74.287]

**Tulos**

75.762

**Esimerkki 0.221**

[150.075, 216.784, 161.96, 246.504]

**Tulos**

193.831

**Esimerkki 0.222**

[129.69, -15.638, -59.745, 113.411, 3.389, -51.888, 155.336, 205.865]

**Tulos**

60.052

**Esimerkki 0.223**

[147.702, 248.833, 214.408, 139.508, 150.178, 122.644, 239.392]

**Tulos**

180.381

**Esimerkki 0.224**

[182.854, 113.394, 233.144, 170.266, 40.784, 114.721, -91.394, 108.149]

**Tulos**

108.99

**Esimerkki 0.225**

[184.463, 208.552, 167.923, 238.961, -28.824, 177.799, 203.581, 214.867]

**Tulos**

170.915

**Esimerkki 0.226**

[118.823, -21.969, 129.9, -75.07, -70.035, 74.708, -72.904]

**Tulos**

11.922

**Esimerkki 0.227**

[196.498, 127.82, 152.34, 243.226, 88.527, -34.724, 75.746, -26.137]

**Tulos**

102.912

**Esimerkki 0.228**

[-59.526, 55.871, 118.248, 197.073]

**Tulos**

77.916

**Esimerkki 0.229**

[112.638, 131.471, -68.982, 243.149, -30.086, 28.129, 15.18, 175.322]

**Tulos**

75.853

**Esimerkki 0.230**

[74.381, 138.405, 189.732, 111.452, -72.375, 191.087, 73.098, 105.602, 4.542]

**Tulos**

90.658

**Esimerkki 0.231**

[-74.514, -54.334, 67.06, 47.348, 31.568]

**Tulos**

3.426

**Esimerkki 0.232**

[75.0, 101.313, 116.392, -0.366, 212.221, 138.735, 204.051, 207.851, 246.71]

**Tulos**

144.656

**Esimerkki 0.233**

[-35.413, 12.056, 191.893, 88.703, 72.429, 197.504, -32.411, -53.21]

**Tulos**

55.194

**Esimerkki 0.234**

[224.401, 195.151, 183.105, -16.694, -15.311, 97.76, -18.702, 225.634]

**Tulos**

109.418

**Esimerkki 0.235**

[-7.962, -37.114, -41.599]

**Tulos**

-28.892

**Esimerkki 0.236**

[17.204, 201.732, -38.186, 14.402, -21.081]

**Tulos**

34.814

**Esimerkki 0.237**

[20.3, 232.812, -49.748, 205.222, 110.007, 21.877, 183.686, 191.009]

**Tulos**

114.396

**Esimerkki 0.238**

[-36.221, 0.03]

**Tulos**

-18.095

**Esimerkki 0.239**

[86.208, 49.241]

**Tulos**

67.724

**Esimerkki 0.240**

[-57.334, 24.995, 72.22, -78.376, 218.297, 203.999, 21.93, -20.246, 15.97]

**Tulos**

44.606

**Esimerkki 0.241**

[18.155, 114.069, 197.871, -99.696, 201.18]

**Tulos**

86.316

**Esimerkki 0.242**

[152.683, 147.968, 62.877, -44.254, 4.344]

**Tulos**

64.724

**Esimerkki 0.243**

[176.522, -77.808, 119.536]

**Tulos**

72.75

**Esimerkki 0.244**

[-7.478, -49.716, 228.108, -9.744, 223.965]

**Tulos**

77.027

**Esimerkki 0.245**

[16.256, 155.71, 43.059, -64.109, -42.445, 78.725, -12.941, 47.497]

**Tulos**

27.719

**Esimerkki 0.246**

[50.305, -51.73, -85.087, 155.745, 141.982, -21.159, -41.206, 132.518, 23.832]

**Tulos**

33.911

**Esimerkki 0.247**

[30.507, -85.373]

**Tulos**

-27.433

**Esimerkki 0.248**

[-1.662, 16.544, 198.754, 214.723, 186.303, -19.17, 137.477, 137.445]

**Tulos**

108.802

**Esimerkki 0.249**

[16.732, 2.826, 100.101, 21.471, 24.865, -84.056]

**Tulos**

13.657

**Esimerkki 0,250**

[246.358, -31.785, 138.298, 213.703, 114.724, 15.972]

**Tulos**

116.212

**Esimerkki 0.251**

[208.812, 24.785, 213.779, 188.42, 88.614, 128.372, 239.569, -64.778, 125.207]

**Tulos**

128.087

**Esimerkki 0.252**

[4.225, 101.629, 62.852]

**Tulos**

56.235

**Esimerkki 0.253**

[207.449, 85.584, -55.048, -10.53, 30.755]

**Tulos**

51.642

**Esimerkki 0.254**

[50.544, 107.696, 85.929, 188.054, -28.683, -63.888]

**Tulos**

56.609

**Esimerkki 0.255**

[-80.409, 65.193, 241.323, 223.168, 50.86, 200.184]

**Tulos**

116.72

**Esimerkki 0.256**

[-19.251, 236.553, -99.973]

**Tulos**

39.11

**Esimerkki 0.257**

[92.042, 238.351, 45.238, 144.862, 176.455, -99.558, 20.059, -91.56]

**Tulos**

65.736

**Esimerkki 0.258**

[249.93, 193.143, 201.486, 35.858, 185.388, -99.965, 72.185]

**Tulos**

119.718

**Esimerkki 0.259**

[150.262, 95.958]

**Tulos**

123.11

**Esimerkki 0.260**

[-65.735, 193.914, 49.387, -18.48, 189.403]

**Tulos**

69.698

**Esimerkki 0.261**

[-98.388, 210.844, 170.205, 128.375, 238.855, -71.188, -23.816]

**Tulos**

79.27

**Esimerkki 0.262**

[-53.388, 31.309, 19.079, -16.926, 242.421, 210.599]

**Tulos**

72.182

**Esimerkki 0.263**

[200.597, -6.12, -10.081, 178.124, -1.971, 55.151, 175.515, -27.702, 244.955, 133.591]

**Tulos**

94.206

**Esimerkki 0.264**

[171.618, -42.977, -16.666, -96.964, 31.352]

**Tulos**

9.273

**Esimerkki 0.265**

[-85.994, 154.061, 28.175, -40.336, -2.305, 168.386, 140.88, 163.4]

**Tulos**

65.783

**Esimerkki 0.266**

[179.4, 215.455, 209.283, 161.761, -75.018, -81.007, 203.625, 42.0]

**Tulos**

106.937

**Esimerkki 0.267**

[-52.581, 5.629, 120.345, -3.244, 229.948, -20.784, -21.229, 90.361, 11.368, -68.349]

**Tulos**

29.146

**Esimerkki 0.268**

[155.039, 103.423, -32.087, 77.721]

**Tulos**

76.024

**Esimerkki 0.269**

[190.246, 124.183, 75.607, 160.133, -17.862, 179.697]

**Tulos**

118.667

**Esimerkki 0.270**

[64.888, -11.271, 104.506, 220.041]

**Tulos**

94.541

**Esimerkki 0.271**

[126.911, 177.371, 165.648, 112.523, 145.728, 229.829, -90.097]

**Tulos**

123.988

**Esimerkki 0.272**

[-60.041, -56.779, 6.2, 73.114, 137.319]

**Tulos**

19.963

**Esimerkki 0.273**

[118.031, -54.125, 48.589, -41.459]

**Tulos**

17.759

**Esimerkki 0.274**

[118.868, -12.498, -19.221, 11.95, 188.557]

**Tulos**

57.531

**Esimerkki 0.275**

[128.328, 20.497, 96.178, 237.663, 80.568, 109.722]

**Tulos**

112.159

**Esimerkki 0.276**

[27.935, 11.971, 119.532]

**Tulos**

53.146

**Esimerkki 0.277**

[151.151, 144.049, 217.252]

**Tulos**

170.817

**Esimerkki 0.278**

[93.879, -16.478, -74.688, 69.11, 71.352, 133.019]

**Tulos**

46.032

**Esimerkki 0.279**

[6.96, -43.705, -37.764, 53.003, -93.519, 128.452]

**Tulos**

2.238

**Esimerkki 0.280**

[35.414, -67.667, 219.743, 25.9, 202.6, 148.057, 20.56]

**Tulos**

83.515

**Esimerkki 0.281**

[94.321, 137.727]

**Tulos**

116.024

**Esimerkki 0.282**

[221.346, -65.423]

**Tulos**

77.962

**Esimerkki 0.283**

[-10.287, -0.47, 195.152, 209.845, -64.645, -82.959, 106.327]

**Tulos**

50.423

**Esimerkki 0.284**

[24.294, 103.409, -80.719, 96.027, 56.817, 18.594, 138.212, -43.989]

**Tulos**

39.081

**Esimerkki 0.285**

[132.06, 66.966, 109.216, 52.337]

**Tulos**

90.145

**Esimerkki 0.286**

[72.597, 240.688, 44.649, -46.925, -92.109, -24.656]

**Tulos**

32.374

**Esimerkki 0.287**

[5.771, 202.329, 96.66, 104.638, 235.193]

**Tulos**

128.918

**Esimerkki 0.288**

[150.294, -80.748, 28.474]

**Tulos**

32.673

**Esimerkki 0.289**

[-55.711, 55.72, 40.975, 209.662, -74.651, 125.271, 36.67, -2.016]

**Tulos**

41.99

**Esimerkki 0.290**

[76.872, 69.784, 165.38, 126.949, -94.645, 45.574, -42.401]

**Tulos**

49.645

**Esimerkki 0.291**

[31.132, 184.696, 139.797, -24.276, 59.448, 55.704, -20.415, 230.881]

**Tulos**

82.121

**Esimerkki 0.292**

[123.607, 44.731, 186.89, -71.538, -73.171, -73.099, 60.136]

**Tulos**

28.222

**Esimerkki 0.293**

[49.725, 163.873, -54.713, 220.401, 4.501]

**Tulos**

76.757

**Esimerkki 0.294**

[-16.899, 157.634, -93.111]

**Tulos**

15.875

**Esimerkki 0.295**

[-45.613, -3.911, 216.85, -40.965, 54.086, -17.634, 199.144, 79.58]

**Tulos**

55.192

**Esimerkki 0.296**

[120.682, 53.847]

**Tulos**

87.264

**Esimerkki 0.297**

[192.74, 78.623, -5.937, 144.535]

**Tulos**

102.49

**Esimerkki 0.298**

[82.512, -17.775, 96.978, 48.868, 29.313, 190.187, 8.184, 197.455, 6.767, 201.929]

**Tulos**

84.442

**Esimerkki 0.299**

[16.967, 151.986, -89.749, -19.265, 198.043, 190.099]

**Tulos**

74.68

**Esimerkki 0.300**

[3.569, 127.445, -68.837, 103.991, 181.819]

**Tulos**

69.597

**Esimerkki 0.301**

[180.681, 35.468]

**Tulos**

108.074

**Esimerkki 0.302**

[225.125, -0.133, 103.471, 85.367, -54.831]

**Tulos**

71.8

**Esimerkki 0.303**

[93.18, -68.397]

**Tulos**

12.392

**Esimerkki 0.304**

[-36.999, -20.181, 64.912, 147.952, 195.361]

**Tulos**

70.209

**Esimerkki 0.305**

[65.481, 84.546]

**Tulos**

75.014

**Esimerkki 0.306**

[38.143, 172.87, -53.564, -90.628, 242.647, 165.201, 17.546, -48.332]

**Tulos**

55.485

**Esimerkki 0.307**

[217.301, 19.358, -21.02, -51.249]

**Tulos**

41.098

**Esimerkki 0.308**

[-28.982, -63.182, 22.408, 30.425, 125.743, 16.816, 96.711, 215.027, 32.552]

**Tulos**

49.724

**Esimerkki 0.309**

[115.718, -24.175, -93.569, 91.172, -90.559, -11.885, 102.307, -64.17, 76.153, -87.658]

**Tulos**

1.333

**Esimerkki 0.310**

[116.975, 70.776]

**Tulos**

93.875

**Esimerkki 0.311**

[-87.465, 162.79, -70.196, 56.805, 242.247, -7.942, 157.67]

**Tulos**

64.844

**Esimerkki 0.312**

[14.622, 109.042, 102.411]

**Tulos**

75.358

**Esimerkki 0.313**

[160.311, -55.405, 143.015, 236.679, 56.904, 222.146, 54.2]

**Tulos**

116.836

**Esimerkki 0.314**

[-37.22, 22.481, -35.548, 143.148, -67.249]

**Tulos**

5.122

**Esimerkki 0.315**

[-2.104, 41.484, -25.375, 67.997]

**Tulos**

20.501

**Esimerkki 0.316**

[78.677, 204.118, -84.633, -66.793, 107.19, 20.363, 242.345, 151.362, 104.823, 227.314]

**Tulos**

98.477

**Esimerkki 0.317**

[-17.613, 118.43, 177.279, 178.526]

**Tulos**

114.156

**Esimerkki 0.318**

[169.817, 225.686, 65.241, -4.629, 198.818, 149.266]

**Tulos**

134.033

**Esimerkki 0.319**

[-31.438, 212.105, -57.043, 100.978, 200.208, -57.742, 54.525, 48.054]

**Tulos**

58.706

**Esimerkki 0.320**

[3.208, 90.905, 218.863, 79.758, 249.404]

**Tulos**

128.428

**Esimerkki 0.321**

[-65.796, 225.256, -90.863, -31.223, -16.891, 225.033, 249.122, 140.638, 30.242]

**Tulos**

73.946

**Esimerkki 0.322**

[230.4, 180.032, 189.98, 128.532, 62.211, 100.423, 15.212, 23.843, 89.555, 33.028]

**Tulos**

105.322

**Esimerkki 0.323**

[188.616, 79.003, -65.615, -76.318, 83.026, -69.252, 214.45, 35.643, -63.812, -85.226]

**Tulos**

24.051

**Esimerkki 0.324**

[192.335, 189.22, 235.216, 130.727, 222.285]

**Tulos**

193.957

**Esimerkki 0.325**

[248.023, 57.595, -73.013, 200.246, 142.738, -70.94, -43.129, -7.477, 200.087, 6.452]

**Tulos**

66.058

**Esimerkki 0.326**

[209.876, 221.87, 92.96, 227.551, 198.953, 94.793, 144.853, 246.192]

**Tulos**

179.631

**Esimerkki 0.327**

[-23.62, 182.674, 11.011, 140.381]

**Tulos**

77.612

**Esimerkki 0.328**

[111.053, 93.031, 190.083, 141.554, 109.033, 49.824]

**Tulos**

115.763

**Esimerkki 0.329**

[102.937, 190.883, 91.774, -43.955, 160.303, -29.594]

**Tulos**

78.725

**Esimerkki 0.330**

[-84.771, 60.727, 165.566, 27.782, 159.929, 167.451, -64.15]

**Tulos**

61.791

**Esimerkki 0.331**

[201.35, 38.756, -6.849, 38.484, -20.174, 207.447, 17.644, 157.421, 192.316, 216.92]

**Tulos**

104.332

**Esimerkki 0.332**

[226.433, 123.195, 42.792]

**Tulos**

130.807

**Esimerkki 0.333**

[122.414, -16.576, 44.084, 200.259, 127.233, -0.03]

**Tulos**

79.564

**Esimerkki 0.334**

[189.509, 2.559, 70.487, 123.78, -29.282, -71.938]

**Tulos**

47.519

**Esimerkki 0.335**

[16.516, 69.711, 131.31, -46.718, 246.068, 197.225, 165.816]

**Tulos**

111.418

**Esimerkki 0.336**

[61.761, 6.557, -93.386, -74.064, 33.4, 141.295]

**Tulos**

12.594

**Esimerkki 0.337**

[-4.917, -23.241]

**Tulos**

-14.079

**Esimerkki 0.338**

[36.756, 147.195, 20.353]

**Tulos**

68.101

**Esimerkki 0.339**

[60.438, 0.055, 120.026, -57.759, 8.486, 180.778, 203.836, 247.396, 104.095, -85.403]

**Tulos**

78.195

**Esimerkki 0.340**

[-43.263, -3.004, 123.143]

**Tulos**

25.625

**Esimerkki 0.341**

[-68.429, 130.101, 45.673]

**Tulos**

35.782

**Esimerkki 0.342**

[90.245, 234.842, 164.282, 32.508, -79.711, 20.915, 92.18]

**Tulos**

79.323

**Esimerkki 0.343**

[84.834, -93.349, 248.651, -61.657, -39.45, 220.796, -81.712, 160.468]

**Tulos**

54.823

**Esimerkki 0.344**

[-24.985, 84.811, -76.401, 18.334]

**Tulos**

0.44

**Esimerkki 0.345**

[159.291, 160.61, -50.992, 34.053, 78.883, 222.627, 105.95]

**Tulos**

101.489

**Esimerkki 0.346**

[126.199, 150.268, 51.786, -84.338, 103.884, -75.673, 51.738, 147.685, 246.451, 79.241]

**Tulos**

79.724

**Esimerkki 0.347**

[147.614, 38.202, 234.736, 50.813, 106.808, -63.052, -92.199, -3.44, 85.636]

**Tulos**

56.124

**Esimerkki 0.348**

[243.048, -51.461, 74.679, 169.541, -41.639]

**Tulos**

78.834

**Esimerkki 0.349**

[223.847, 115.483, 148.407, -44.824, 99.251, 36.833, -45.949]

**Tulos**

76.15

**Esimerkki 0.350**

[-65.139, -31.824, 217.559, 124.33]

**Tulos**

61.232

**Esimerkki 0.351**

[-77.065, 216.743, 212.04, 161.573, 195.263]

**Tulos**

141.711

**Esimerkki 0.352**

[-48.267, 51.601, 187.641, 143.454, 222.746, 147.612, 39.615]

**Tulos**

106.343

**Esimerkki 0.353**

[105.723, 88.794, 91.675, -40.001, 96.893, -74.548]

**Tulos**

44.756

**Esimerkki 0.354**

[130.217, 188.836, 207.591, 65.531, 145.61, 152.128, -36.543]

**Tulos**

121.91

**Esimerkki 0.355**

[207.084, -31.904, 217.728, 161.595, 120.924]

**Tulos**

135.085

**Esimerkki 0.356**

[89.423, 220.837, -65.452]

**Tulos**

81.603

**Esimerkki 0.357**

[224.746, 20.31, 107.907]

**Tulos**

117.654

**Esimerkki 0,358**

[-60.51, 158.182, -1.215, 246.77, -40.406]

**Tulos**

60.564

**Esimerkki 0.359**

[-48.602, -1.689, 34.762, 101.381, -25.182, 71.517, -79.039, 39.107]

**Tulos**

11.532

**Esimerkki 0.360**

[45.462, 51.409, 167.318, 5.877, 238.912, 66.292, 231.865, 155.91, 230.673, 244.302]

**Tulos**

143.802

**Esimerkki 0.361**

[96.233, 171.614, 12.306]

**Tulos**

93.384

**Esimerkki 0.362**

[215.258, -5.179, 201.824, 89.71, -12.533, -22.842, 97.852]

**Tulos**

80.584

**Esimerkki 0.363**

[84.091, 17.564, 58.169, 6.482, 53.256, 216.444, 171.489]

**Tulos**

86.785

**Esimerkki 0.364**

[92.725, -52.621, 81.603, 240.398, -12.26, 124.441]

**Tulos**

79.048

**Esimerkki 0.365**

[82.868, 35.737, -36.068, 158.792, 155.318, -26.79]

**Tulos**

61.643

**Esimerkki 0.366**

[-76.779, 235.989, 128.177, 16.053, 54.458, -67.415]

**Tulos**

48.414

**Esimerkki 0,367**

[231.159, 217.795, 230.676, -11.951, -82.697, 31.413]

**Tulos**

102.732

**Esimerkki 0.368**

[93.468, 236.372, 215.784, 28.917, 53.227, 170.673, 174.439]

**Tulos**

138.983

**Esimerkki 0,369**

[82.482, 243.593, -95.232, 239.457, -73.123, 157.387, 64.543, 46.107, 168.68]

**Tulos**

92.655

**Esimerkki 0.370**

[200.207, 58.57]

**Tulos**

129.388

**Esimerkki 0.371**

[116.907, 47.0, -76.086, 26.174]

**Tulos**

28.499

**Esimerkki 0.372**

[196.824, -37.158, 214.326]

**Tulos**

124.664

**Esimerkki 0.373**

[-75.807, 244.532, -47.644, 139.007, -77.132, 245.45, 5.393, -43.568]

**Tulos**

48.779

**Esimerkki 0.374**

[219.791, 112.864, 175.918, -70.533, -89.211, 40.58, 124.448]

**Tulos**

73.408

**Esimerkki 0,375**

[164.406, 184.998, -66.442, 89.34, -1.556, -17.756, 247.809, -48.086, 146.561, 88.855]

**Tulos**

78.813

**Esimerkki 0,376**

[3.984, 40.535, 238.874]

**Tulos**

94.464

**Esimerkki 0.377**

[-18.796, 194.818]

**Tulos**

88.011

**Esimerkki 0.378**

[78.309, 113.056, 3.865, 202.756, 71.109, 1.263, 158.26, -26.552, 196.017, 110.39]

**Tulos**

90.847

**Esimerkki 0.379**

[208.068, -49.928, 185.442, 135.58, 70.11]

**Tulos**

109.854

**Esimerkki 0.380**

[100.665, 40.782, 24.775, 206.105, 112.523, -96.309, 9.758, 149.054, 3.861, 235.974]

**Tulos**

78.719

**Esimerkki 0.381**

[124.612, 78.563, 2.944]

**Tulos**

68.706

**Esimerkki 0.382**

[173.421, -39.421, 120.886, -35.706, -64.922, 108.501, 132.542, 50.402]

**Tulos**

55.713

**Esimerkki 0.383**

[-54.036, 202.453, 98.539]

**Tulos**

82.319

**Esimerkki 0.384**

[-79.132, 241.794, 103.214, 49.375, 113.444, -18.745]

**Tulos**

68.325

**Esimerkki 0,385**

[189.535, 137.888, 71.631, 36.796, 200.799, 114.517]

**Tulos**

125.194

**Esimerkki 0.386**

[158.088, -8.788, 137.777]

**Tulos**

95.692

**Esimerkki 0.387**

[203.312, 175.989, -55.34, -55.642, 157.991]

**Tulos**

85.262

**Esimerkki 0,388**

[85.236, 109.509, -50.954, 191.838, -74.337, -3.426, 65.484]

**Tulos**

46.193

**Esimerkki 0.389**

[236.964, -16.696, 244.268, -89.543, 8.392, 238.854, 71.103, -80.021, 148.528]

**Tulos**

84.65

**Esimerkki 0.390**

[249.423, -53.084, 220.165, 69.446, 89.386, 76.86]

**Tulos**

108.699

**Esimerkki 0.391**

[93.721, 169.755, 236.488, 234.255, 107.15, -63.965, 170.647, 35.878, -34.218]

**Tulos**

105.523

**Esimerkki 0.392**

[138.212, -24.964, 236.052, 211.589, 162.605]

**Tulos**

144.699

**Esimerkki 0.393**

[38.198, 26.324, 56.332, -32.007, 162.261, 77.154, -70.885, 47.784, 120.58]

**Tulos**

47.305

**Esimerkki 0,394**

[-51.496, 56.177, 55.554, -17.425, -6.185, 3.721]

**Tulos**

6.724

**Esimerkki 0.395**

[209.867, -8.343]

**Tulos**

100.762

**Esimerkki 0,396**

[245.091, 201.984, 204.428, 222.046, 4.807, 21.497, -34.025, 160.097]

**Tulos**

128.241

**Esimerkki 0,397**

[106.01, 11.072, -70.575, -23.197, 238.627, 235.865, -35.386]

**Tulos**

66.059

**Esimerkki 0.398**

[56.5, 190.676, 67.867, 30.479]

**Tulos**

86.38

**Esimerkki 0.399**

[-97.561, -98.725, -99.064, -71.908, 181.665, 57.646, 127.671, 58.021, -88.789, 245.506]

**Tulos**

21.446

**Esimerkki 0.400**

[157.337, 167.818, 247.357, 28.016, -62.002, 240.373, 233.009, 50.509, 169.829, 161.954]

**Tulos**

139.42

**Esimerkki 0.401**

[-47.505, -62.534, 205.622, -65.294, 84.133, -90.197, -51.526, 134.582, -63.206, -53.026]

**Tulos**

-0.895

**Esimerkki 0.402**

[174.928, 23.598, 162.162, -8.708, -15.016, 6.279, 185.501, 178.755]

**Tulos**

88.437

**Esimerkki 0.403**

[-37.655, -29.715, 177.872]

**Tulos**

36.834

**Esimerkki 0.404**

[-80.894, 29.059]

**Tulos**

-25.918

**Esimerkki 0.405**

[226.316, 235.513]

**Tulos**

230.914

**Esimerkki 0.406**

[206.423, 199.275]

**Tulos**

202.849

**Esimerkki 0.407**

[-11.846, -44.11, 142.451]

**Tulos**

28.832

**Esimerkki 0.408**

[67.333, -6.25, 145.652, -89.418, -47.298, -23.871, 182.589]

**Tulos**

32.677

**Esimerkki 0.409**

[120.368, -54.946, -77.713, 97.409, 30.925, -84.359, 217.989]

**Tulos**

35.668

**Esimerkki 0.410**

[117.527, -43.288, 131.454, 144.37]

**Tulos**

87.516

**Esimerkki 0.411**

[175.313, 238.88, 58.386, -75.491, 126.316]

**Tulos**

104.681

**Esimerkki 0.412**

[-72.543, 98.489, 218.479, -87.37, -37.241, -68.668]

**Tulos**

8.524

**Esimerkki 0.413**

[-85.345, 100.504]

**Tulos**

7.58

**Esimerkki 0.414**

[64.653, 76.91]

**Tulos**

70.782

**Esimerkki 0.415**

[39.222, -61.519, 103.3, -72.407, 198.299, 99.057, 228.194, 204.841, 134.64, -71.826]

**Tulos**

80.18

**Esimerkki 0.416**

[6.647, 130.602, 147.159]

**Tulos**

94.803

**Esimerkki 0.417**

[-19.671, 72.292, -29.094, -98.837, -92.923, -43.113, 29.1, 213.153, -6.17, -33.778]

**Tulos**

-0.904

**Esimerkki 0.418**

[248.326, 83.529, -78.248, 136.997, 242.493]

**Tulos**

126.619

**Esimerkki 0.419**

[84.142, -99.804]

**Tulos**

-7.831

**Esimerkki 0.420**

[206.822, 138.658, 97.719, 225.274, 206.457, 227.788, 28.568, 130.667, 31.216, 219.85]

**Tulos**

151.302

**Esimerkki 0.421**

[5.895, 229.727]

**Tulos**

117.811

**Esimerkki 0.422**

[45.929, 126.466]

**Tulos**

86.197

**Esimerkki 0.423**

[220.903, 155.959]

**Tulos**

188.431

**Esimerkki 0.424**

[-47.904, 100.465]

**Tulos**

26.28

**Esimerkki 0.425**

[89.776, -37.895, -45.315, 75.805, 144.052, 150.156]

**Tulos**

62.763

**Esimerkki 0,426**

[-10.911, 222.925, 128.931, 204.2, 8.763]

**Tulos**

110.782

**Esimerkki 0.427**

[232.685, -12.659]

**Tulos**

110.013

**Esimerkki 0.428**

[81.785, 39.911, 181.12, 138.304, 200.004, 151.111]

**Tulos**

132.039

**Esimerkki 0.429**

[-43.674, 91.258, 128.43, -82.839, 8.364, 227.158, 96.238]

**Tulos**

60.705

**Esimerkki 0.430**

[211.292, 92.275, 128.423, 242.327, -54.053, 89.501, 64.784]

**Tulos**

110.65

**Esimerkki 0,431**

[74.744, 191.586]

**Tulos**

133.165

**Esimerkki 0.432**

[72.573, 198.024, 64.573, -98.444, -67.787, -46.476, -51.596, 139.0]

**Tulos**

26.233

**Esimerkki 0.433**

[-9.301, -10.629, 88.777, 68.965]

**Tulos**

34.453

**Esimerkki 0,434**

[97.816, -78.424]

**Tulos**

9.696

**Esimerkki 0.435**

[208.757, -63.857, 124.458, 25.069, -39.093, -85.924, 112.747]

**Tulos**

40.308

**Esimerkki 0,436**

[-70.772, 6.883, 155.287, 91.501, -24.795, -41.265, -85.621, 14.828, 189.461]

**Tulos**

26.167

**Esimerkki 0,437**

[107.711, 223.387, 231.078]

**Tulos**

187.392

**Esimerkki 0,438**

[-3.704, -12.567, -50.458, 112.248, 53.058, 137.187, 5.394, -18.624, -64.728, 67.38]

**Tulos**

22.519

**Esimerkki 0.439**

[58.948, 71.862, -67.686, -87.392, 68.939, 56.447, -64.34, -19.285, -58.482, 206.635]

**Tulos**

16.565

**Esimerkki 0.440**

[244.785, 12.845, 5.136, 220.247, 182.419, 39.69, 57.991, -24.575]

**Tulos**

92.317

**Esimerkki 0,441**

[-71.759, -6.882, 88.755, 124.904, 78.518, -87.128, 200.529]

**Tulos**

46.705

**Esimerkki 0,442**

[123.511, 37.811, 249.595, -25.324]

**Tulos**

96.398

**Esimerkki 0.443**

[-40.079, 236.153, -31.732, 249.775, 92.304, -73.536, 95.181]

**Tulos**

75.438

**Esimerkki 0.444**

[68.467, 152.064, 238.941, -70.813]

**Tulos**

97.165

**Esimerkki 0.445**

[200.031, 204.928, 19.663, -80.657]

**Tulos**

85.991

**Esimerkki 0,446**

[214.568, 155.798, 113.635, 245.33, 62.896, 20.278, 87.548]

**Tulos**

128.579

**Esimerkki 0.447**

[8.015, 163.159, -7.852, 235.127, 70.681, 223.469, 28.967, 195.462, -93.872, -95.538]

**Tulos**

72.762

**Esimerkki 0.448**

[108.26, -20.681, 127.479, -29.352]

**Tulos**

46.426

**Esimerkki 0.449**

[-22.881, 198.289, -59.136]

**Tulos**

38.757

**Esimerkki 0.450**

[-89.323, 135.914, 236.915, 121.352, 199.93, 205.53, 126.035, -90.563, -25.302]

**Tulos**

91.165

**Esimerkki 0.451**

[199.389, 42.128]

**Tulos**

120.758

**Esimerkki 0.452**

[36.904, 41.881, 0.625, 113.491, -64.366, 231.261, -58.048]

**Tulos**

43.107

**Esimerkki 0,453**

[-11.415, -7.455, 87.351]

**Tulos**

22.827

**Esimerkki 0,454**

[56.731, -88.6, 186.966, 171.149, -58.904, 24.133, 82.423, 25.83, 78.767]

**Tulos**

53.166

**Esimerkki 0,455**

[165.652, 233.822, 194.622, 51.9]

**Tulos**

161.499

**Esimerkki 0,456**

[-17.604, 15.108, 34.328, -94.608]

**Tulos**

-15.694

**Esimerkki 0,457**

[142.594, 106.465]

**Tulos**

124.53

**Esimerkki 0,458**

[88.724, 12.098, -74.935, 60.97, 159.794, 49.669, 84.371, 172.309, 190.247]

**Tulos**

82.583

**Esimerkki 0,459**

[117.913, 21.456, 98.401, -32.801, -20.798, 182.745, 201.277]

**Tulos**

81.17

**Esimerkki 0.460**

[212.309, -5.765, 87.901, 161.279, 232.479, 108.524, 128.298]

**Tulos**

132.146

**Esimerkki 0,461**

[81.221, -15.412, 86.0, 60.914, 93.435, -48.008, 132.116, 132.732, 64.86]

**Tulos**

65.318

**Esimerkki 0,462**

[49.319, 81.528, -74.362, 101.648, 76.452, 45.877, 242.448, 150.207, -70.206, -55.065]

**Tulos**

54.785

**Esimerkki 0,463**

[237.061, 157.598, 239.678, 135.432, 186.198, -70.821, 237.869, -66.916]

**Tulos**

132.012

**Esimerkki 0,464**

[124.394, 176.934, 160.269, 180.034, -58.064, 244.896, -81.081, -99.892]

**Tulos**

80.936

**Esimerkki 0,465**

[213.172, 139.72, -16.158, 11.292, 243.889]

**Tulos**

118.383

**Esimerkki 0,466**

[-28.892, 134.017, 232.205, -4.225, 45.492, 130.32]

**Tulos**

84.82

**Esimerkki 0,467**

[-85.019, 112.689, -26.082, 206.652, 174.103, 30.316, 139.997, 248.12, 117.027]

**Tulos**

101.978

**Esimerkki 0,468**

[243.119, 198.975, 44.828, 192.078, 66.175, 169.375, 220.423, 45.768, 20.289, -56.022]

**Tulos**

114.501

**Esimerkki 0,469**

[-55.627, -50.2, 233.087, 168.443, 9.002, -14.155, -58.903]

**Tulos**

33.092

**Esimerkki 0.470**

[219.345, 43.293, -71.722, 89.354, 78.234, 134.039, 137.045, 179.305, 1.526]

**Tulos**

90.047

**Esimerkki 0,471**

[15.32, 225.178, 183.674, 115.255, 217.914, -0.017, 193.042, 57.041, 7.858, 63.571]

**Tulos**

107.884

**Esimerkki 0,472**

[46.655, 106.031, 23.6, 61.92, -49.527, 120.157, 168.321, -12.477, 232.348, 206.45]

**Tulos**

90.348

**Esimerkki 0,473**

[105.928, -57.523, -66.34, 41.07, 93.737, 50.221]

**Tulos**

27.849

**Esimerkki 0,474**

[18.604, -86.842, -18.702, 15.142, -22.132, 153.856, 173.481, 192.066, -65.509]

**Tulos**

39.996

**Esimerkki 0.475**

[145.813, 207.226, 199.292]

**Tulos**

184.11

**Esimerkki 0,476**

[96.655, 210.608, 13.609]

**Tulos**

106.957

**Esimerkki 0,477**

[-47.917, -46.834, 56.498, 201.571, -36.733, -64.537, 87.826]

**Tulos**

21.411

**Esimerkki 0,478**

[-51.072, 61.857, 156.347, 238.542, 46.277, 67.491, 168.841, 76.852]

**Tulos**

95.642

**Esimerkki 0,479**

[102.426, 125.598]

**Tulos**

114.012

**Esimerkki 0.480**

[132.375, 67.572, 67.843, 25.489, 54.021, 78.333]

**Tulos**

70.939

**Esimerkki 0.481**

[194.964, 80.506, -41.268, 32.912, -21.6, 21.543, 69.269]

**Tulos**

48.047

**Esimerkki 0,482**

[-7.455, 5.485, 213.759, 90.438]

**Tulos**

75.557

**Esimerkki 0.483**

[225.907, 89.659, 168.992, -5.962, 58.185, 116.464]

**Tulos**

108.874

**Esimerkki 0,484**

[81.875, -14.121, 229.149]

**Tulos**

98.968

**Esimerkki 0,485**

[47.209, 98.901, 201.122, 185.771, 51.304, 34.03]

**Tulos**

103.056

**Esimerkki 0.486**

[-48.061, 26.658, -86.358, 1.313, 210.341, 116.85, 156.805, 186.555, 14.375]

**Tulos**

64.275

**Esimerkki 0.487**

[122.376, -68.918, -0.307, 6.323, -52.407]

**Tulos**

1.413

**Esimerkki 0,488**

[94.324, -57.371, 218.035, 185.255, 174.01, 164.705, 115.56, 55.251, 43.573]

**Tulos**

110.371

**Esimerkki 0,489**

[207.778, -78.48, 106.025, 89.5, -66.261, 3.733, 236.586, 234.142]

**Tulos**

91.628

**Esimerkki 0.490**

[-98.049, 232.727, 175.208]

**Tulos**

103.295

**Esimerkki 0,491**

[214.688, 14.354]

**Tulos**

114.521

**Esimerkki 0,492**

[225.551, 242.806, 26.087, 12.847]

**Tulos**

126.823

**Esimerkki 0,493**

[-65.453, 56.953, -25.228]

**Tulos**

-11.243

**Esimerkki 0,494**

[-26.828, 140.474, 94.128, 88.41, 126.87, 175.56, 58.633, 206.244, 100.455, -92.055]

**Tulos**

87.189

**Esimerkki 0,495**

[78.557, 97.293]

**Tulos**

87.925

**Esimerkki 0,496**

[85.925, 218.341, -55.232, 136.11, 243.387, 98.158, 183.742, 85.875, 124.291, -95.213]

**Tulos**

102.538

**Esimerkki 0,497**

[158.1, 31.472, -51.026, 117.739, 188.909]

**Tulos**

89.039

**Esimerkki 0,498**

[220.14, 5.173, -78.832, 132.403]

**Tulos**

69.721

**Esimerkki 0.499**

[50.364, 55.624]

**Tulos**

52.994

**Esimerkki 0,500**

[30.691, 178.429, 144.808, 59.496]

**Tulos**

103.356

**Esimerkki 0.501**

[35.47, -32.47, -93.557, 152.479, 190.059, 67.967, 93.939, 54.545, 27.758, 74.86]

**Tulos**

57.105

**Esimerkki 0.502**

[-27.872, -9.249, 218.646, -32.0, 49.715, 58.225, 118.489, 29.679, 31.407]

**Tulos**

48.56

**Esimerkki 0.503**

[207.434, -54.286, 205.305, 84.324, -62.931, -78.806, -22.959, -67.369, -55.279, -98.626]

**Tulos**

5.681

**Esimerkki 0.504**

[66.743, 156.936, 197.214, 118.73, 13.044, -94.04, -61.492, -93.247, -84.294, 16.947]

**Tulos**

23.654

**Esimerkki 0.505**

[-13.67, -10.677, 143.161, 202.44, 159.612, -30.358, 175.917]

**Tulos**

89.489

**Esimerkki 0,506**

[247.527, 173.51, 25.346, 72.739, 81.215]

**Tulos**

120.067

**Esimerkki 0,507**

[95.472, 109.291, 245.955, 86.122, -90.639, 144.544, 31.063, 89.001, 40.671]

**Tulos**

83.498

**Esimerkki 0.508**

[147.435, 237.403, -71.733, -63.056, -55.979]

**Tulos**

38.814

**Esimerkki 0.509**

[159.215, -75.338, 90.418, 236.001, 209.563, 225.9]

**Tulos**

140.96

**Esimerkki 0.510**

[11.182, 22.522, 101.599, 79.578, -19.194, 186.843, -65.371, 176.492]

**Tulos**

61.706

**Esimerkki 0,511**

[58.861, -58.642, 30.338, 115.87]

**Tulos**

36.607

**Esimerkki 0.512**

[-93.376, 88.178, 1.636, 191.438, 110.227, 110.362, -90.095]

**Tulos**

45.481

**Esimerkki 0,513**

[-51.878, 34.678, 29.515, 122.933, 95.681, 44.333]

**Tulos**

45.877

**Esimerkki 0.514**

[35.59, 99.493, -68.768, 195.346, 59.259]

**Tulos**

64.184

**Esimerkki 0,515**

[172.252, 19.484, 201.216, -83.105, 159.707, 134.816, -11.121, -90.288, 47.703]

**Tulos**

61.185

**Esimerkki 0.516**

[140.924, 212.912, 8.74, 137.912, -84.972, -33.58, -49.922, -41.534]

**Tulos**

36.31

**Esimerkki 0,517**

[184.097, 161.433, -71.409, -13.302, 233.086, 12.99]

**Tulos**

84.482

**Esimerkki 0,518**

[139.304, -83.145, 163.642, 43.653, 68.259, 229.97, 25.046, 121.49, 198.512, 39.247]

**Tulos**

94.598

**Esimerkki 0.519**

[230.416, -57.729, 214.095, 137.62, 196.636, 137.956, 199.628, -57.559, 16.386, 186.284]

**Tulos**

120.373

**Esimerkki 0.520**

[108.265, 158.058, 146.283, 221.688, 69.912]

**Tulos**

140.841

**Esimerkki 0,521**

[124.258, 243.491, -43.293, 177.196, 95.391, -76.839, 10.383, 62.834, 197.043, -69.251]

**Tulos**

72.121

**Esimerkki 0,522**

[-84.522, -84.904, 107.97, 176.476, 221.07, 52.302, 223.497, 64.707, 111.483]

**Tulos**

87.564

**Esimerkki 0,523**

[167.588, 219.343]

**Tulos**

193.466

**Esimerkki 0,524**

[-14.416, 238.206, 97.167, 228.849, -35.044, 79.803, 119.148, -15.3, 92.598]

**Tulos**

87.89

**Esimerkki 0,525**

[229.395, -96.393, 60.892]

**Tulos**

64.631

**Esimerkki 0,526**

[78.781, -88.21, 157.881, -54.169]

**Tulos**

23.571

**Esimerkki 0,527**

[-45.709, 121.021, 47.686, 106.517, 82.047, 174.704, 194.464, -68.875, 98.607, 200.625]

**Tulos**

91.109

**Esimerkki 0.528**

[247.931, 34.114, 140.132, -60.779, 111.539, 94.932, 80.318]

**Tulos**

92.598

**Esimerkki 0.529**

[228.923, 228.115, 155.944, -47.3, 41.384, 27.785, 115.167, 41.426]

**Tulos**

98.93

**Esimerkki 0.530**

[10.724, -65.993, 107.56, 154.38, 117.135, 114.495, 11.544]

**Tulos**

64.264

**Esimerkki 0,531**

[-81.131, 150.395, 110.11]

**Tulos**

59.791

**Esimerkki 0,532**

[225.892, 62.903]

**Tulos**

144.398

**Esimerkki 0,533**

[65.387, 158.51, 5.364, 234.933, 178.782, 208.827, 170.068, -48.79, -56.1, 58.206]

**Tulos**

97.519

**Esimerkki 0,534**

[36.971, 26.64, 117.665, -17.122, 167.761, -18.789, 184.841, 84.66]

**Tulos**

72.828

**Esimerkki 0,535**

[45.739, -45.363, -8.325]

**Tulos**

-2.65

**Esimerkki 0,536**

[-19.159, 128.529, 167.037, 114.455, -97.409, 67.038]

**Tulos**

60.082

**Esimerkki 0,537**

[18.791, 222.774, -4.565, 186.901, 79.113, 0.848, 245.117]

**Tulos**

106.997

**Esimerkki 0,538**

[-87.957, 120.743, -51.831, 155.86, 64.708, 199.518, 101.769, 42.557, -95.106]

**Tulos**

50.029

**Esimerkki 0,539**

[-47.323, 34.798, 11.658, 61.506, 159.654, -87.945, 89.509, 132.403, 176.143]

**Tulos**

58.934

**Esimerkki 0.540**

[-56.131, 42.738, 69.778]

**Tulos**

18.795

**Esimerkki 0,541**

[112.771, 219.989]

**Tulos**

166.38

**Esimerkki 0,542**

[228.732, 0.864, -96.117, 185.198, -76.082, 157.171, 93.798, 235.564, 81.912, -18.661]

**Tulos**

79.238

**Esimerkki 0,543**

[73.3, 109.762, 214.701, 107.305, 160.889, 218.562, 54.763, 148.637]

**Tulos**

135.99

**Esimerkki 0,544**

[-77.355, -39.914, -58.481, 126.87, 215.247, 225.51, 194.059, 15.129, 196.666, 26.548]

**Tulos**

82.428

**Esimerkki 0,545**

[145.466, 191.693, -37.663, 231.965, 175.925, 212.885, 241.65, -1.828, -87.743]

**Tulos**

119.15

**Esimerkki 0,546**

[154.31, 61.66, 197.0, 146.568, 87.356]

**Tulos**

129.379

**Esimerkki 0,547**

[198.458, -11.734, 214.543, -56.112, 214.139, -52.456, 29.492]

**Tulos**

76.619

**Esimerkki 0,548**

[-57.016, 175.989, 132.392, 217.191, 102.575, 192.182, 214.864, 30.191, 138.432]

**Tulos**

127.422

**Esimerkki 0,549**

[245.466, 19.262, 199.878]

**Tulos**

154.869

**Esimerkki 0.550**

[21.723, 130.05, 75.095]

**Tulos**

75.623

**Esimerkki 0,551**

[80.965, 237.421, 199.121, 135.429, 47.982, 86.347, -57.786, 152.241, -83.536, 6.766]

**Tulos**

80.495

**Esimerkki 0,552**

[225.248, -56.406]

**Tulos**

84.421

**Esimerkki 0,553**

[140.036, 50.806, -61.0, 245.291, 229.038, 204.613, 141.235, 70.274, -28.45, -28.725]

**Tulos**

96.312

**Esimerkki 0,554**

[54.178, 210.208]

**Tulos**

132.193

**Esimerkki 0.555**

[88.481, 16.781, 55.99, 13.277]

**Tulos**

43.632

**Esimerkki 0,556**

[-61.892, 158.927, 7.47, 211.832, 156.964, 50.793, 86.636, 33.142, 151.127, 117.796]

**Tulos**

91.28

**Esimerkki 0,557**

[154.797, 166.764]

**Tulos**

160.781

**Esimerkki 0,558**

[-17.026, 165.89]

**Tulos**

74.432

**Esimerkki 0,559**

[243.864, 79.587, 37.735, 194.965]

**Tulos**

139.038

**Esimerkki 0.560**

[50.886, 4.737]

**Tulos**

27.812

**Esimerkki 0,561**

[-23.938, 180.002, 99.059, 120.407, 49.388, -89.173, 13.758, 167.814, 80.522]

**Tulos**

66.427

**Esimerkki 0,562**

[236.411, 114.822, -77.229, 18.719, 102.296]

**Tulos**

79.004

**Esimerkki 0,563**

[244.327, 48.307]

**Tulos**

146.317

**Esimerkki 0,564**

[183.184, 122.179, 241.407, 3.924, 69.309, 133.988, -62.87, -95.258, 165.007, -34.058]

**Tulos**

72.681

**Esimerkki 0,565**

[217.81, 223.973, 80.273, 20.718]

**Tulos**

135.694

**Esimerkki 0,566**

[-57.148, -59.655, 208.462, 223.004, 100.684, 188.569]

**Tulos**

100.653

**Esimerkki 0,567**

[162.861, 186.665, -33.021, 135.027, 213.376, -37.163, -10.456, -77.387]

**Tulos**

67.488

**Esimerkki 0,568**

[223.18, 69.66, 239.099, 1.091, 6.472, 17.132]

**Tulos**

92.772

**Esimerkki 0,569**

[-97.135, 200.214, -30.424]

**Tulos**

24.218

**Esimerkki 0.570**

[101.955, -22.43, -56.969]

**Tulos**

7.519

**Esimerkki 0,571**

[-27.223, 144.738, 134.533, 213.727, -72.707, 61.629, -96.294, 94.71, -61.109]

**Tulos**

43.556

**Esimerkki 0,572**

[61.282, 56.467, -3.814]

**Tulos**

37.978

**Esimerkki 0,573**

[23.061, 0.487, -96.305, 212.958, 239.121, 149.408, 85.691]

**Tulos**

87.774

**Esimerkki 0,574**

[-22.511, 163.905, 137.904, 225.138, 208.174, 57.216, 198.449]

**Tulos**

138.325

**Esimerkki 0,575**

[15.763, 51.838, 51.349, -99.258, 160.163]

**Tulos**

35.971

**Esimerkki 0,576**

[-1.833, 218.553, -61.132, -19.027, 87.034]

**Tulos**

44.719

**Esimerkki 0,577**

[157.869, 203.974, 123.432, 156.719, 187.797, 247.978, 176.758]

**Tulos**

179.218

**Esimerkki 0,578**

[186.256, 170.654, 79.654, 97.597, -92.038, 86.322]

**Tulos**

88.074

**Esimerkki 0,579**

[-4.188, -82.17, 177.449, 132.881, 172.002]

**Tulos**

79.195

**Esimerkki 0.580**

[58.76, -68.416, -56.764, 23.886, -52.382, 15.946, 128.488, 249.664, 206.743, 138.597]

**Tulos**

64.452

**Esimerkki 0,581**

[162.434, 99.656, 86.665, 13.03, 99.225, 43.608, -41.822, 206.671]

**Tulos**

83.683

**Esimerkki 0,582**

[190.428, -96.979, -95.523, 50.089, 65.486, -98.869, -64.04]

**Tulos**

-7.058

**Esimerkki 0,583**

[183.968, 72.9, -62.314, 191.214, 78.442, 29.207]

**Tulos**

82.236

**Esimerkki 0,584**

[247.206, 219.694, -46.551, -8.901, 16.075, 247.831]

**Tulos**

112.559

**Esimerkki 0,585**

[57.867, -19.488, 101.33, 222.696, -50.347]

**Tulos**

62.412

**Esimerkki 0,586**

[138.526, 60.81, 233.845, -33.602, 189.784, 13.888, 184.543, 53.635, 18.299, -87.132]

**Tulos**

77.26

**Esimerkki 0,587**

[162.658, 7.635, 90.121]

**Tulos**

86.805

**Esimerkki 0,588**

[44.551, 103.746, 126.246, -67.048, 217.617, 235.435, 84.994, 136.789]

**Tulos**

110.291

**Esimerkki 0,589**

[-94.649, -47.045, 244.483, 5.338, 243.43, -3.442, 16.366]

**Tulos**

52.069

**Esimerkki 0,590**

[-29.579, 140.289, 149.431, -3.613, 227.44, -20.94, 80.001, -26.74, 117.711, 87.216]

**Tulos**

72.122

**Esimerkki 0,591**

[-51.364, 36.89, -36.418, 79.784, 17.869, -4.355, 159.453]

**Tulos**

28.837

**Esimerkki 0,592**

[-29.059, 215.855, -52.111, 112.309, -45.98]

**Tulos**

40.203

**Esimerkki 0,593**

[61.911, -99.08, 3.512, -69.373, 240.562, 221.108, 43.672, 200.51]

**Tulos**

75.353

**Esimerkki 0,594**

[8.326, 17.383, 121.36, 224.417, -31.113, 52.054]

**Tulos**

65.404

**Esimerkki 0,595**

[-17.379, 171.195, 66.643, 209.116, -91.047, 179.202, 214.886, 34.22, 238.33, 209.302]

**Tulos**

121.447

**Esimerkki 0,596**

[59.61, -89.334, 157.475, 196.944, 233.59, 70.205, 75.641]

**Tulos**

100.59

**Esimerkki 0,597**

[-19.439, 177.13, 177.82, 1.818, -41.251, 112.774, -65.485, 124.748, 139.04, 149.461]

**Tulos**

75.662

**Esimerkki 0,598**

[103.22, 185.904, -17.334, 225.815, -36.87, 49.503, 122.265, -67.533, 13.831]

**Tulos**

64.311

**Esimerkki 0,599**

[-32.557, -70.922, 191.786, 244.222]

**Tulos**

83.132

**Esimerkki 0.600**

[-51.824, 233.986, 91.275, 213.589, 188.414, -4.454, -32.815, 157.482]

**Tulos**

99.457

**Esimerkki 0.601**

[41.223, 78.089, 190.041]

**Tulos**

103.118

**Esimerkki 0.602**

[-85.854, -70.228, 183.227, 66.622, 93.728, 56.008]

**Tulos**

40.584

**Esimerkki 0,603**

[178.739, 210.073, 12.894, 57.893, 68.801]

**Tulos**

105.68

**Esimerkki 0,604**

[98.214, 215.946, 204.105, 125.849, 229.238, -20.862, 92.086]

**Tulos**

134.939

**Esimerkki 0,605**

[-80.477, 218.988, -84.954]

**Tulos**

17.852

**Esimerkki 0.606**

[59.629, 97.016, 239.239, -98.324]

**Tulos**

74.39

**Esimerkki 0.607**

[73.791, 15.601, 82.396, 238.285]

**Tulos**

102.518

**Esimerkki 0,608**

[-78.42, 155.561, -99.439, 201.597]

**Tulos**

44.825

**Esimerkki 0.609**

[54.657, -26.631, 201.203, -28.857, 87.738, -19.556]

**Tulos**

44.759

**Esimerkki 0.610**

[99.429, 6.36, 87.795, 38.17, -88.231, 171.334]

**Tulos**

52.476

**Esimerkki 0,611**

[193.756, 55.407, 125.573, 43.137, -98.689, 133.615, 242.75]

**Tulos**

99.364

**Esimerkki 0,612**

[225.467, -70.715, 131.91, -59.496, 243.354, 13.784]

**Tulos**

80.717

**Esimerkki 0,613**

[-46.432, 71.258, 8.18, 239.612, 71.14, -41.758, 217.404, 75.711]

**Tulos**

74.389

**Esimerkki 0,614**

[198.858, -45.477, 73.449]

**Tulos**

75.61

**Esimerkki 0,615**

[0.25, 70.678, -78.975, -44.186, -9.874, -2.717]

**Tulos**

-10.804

**Esimerkki 0,616**

[-55.913, 203.771, 94.962, 233.852, 51.049, 89.534, -50.709, 158.968, -25.296, 104.165]

**Tulos**

80.438

**Esimerkki 0,617**

[209.96, 181.177, 132.621, 106.427, 37.974, -36.658, -39.989]

**Tulos**

84.502

**Esimerkki 0,618**

[189.429, -34.947, 43.067, -54.332, 201.917, 122.601, -2.714, 236.741, 28.755, 148.385]

**Tulos**

87.89

**Esimerkki 0,619**

[161.683, 162.041, 187.429, -79.681, 60.809, 225.806]

**Tulos**

119.681

**Esimerkki 0.620**

[64.738, 65.665, 96.525, -45.422, -87.911]

**Tulos**

18.719

**Esimerkki 0,621**

[246.282, 231.815, 1.709, -51.234, -76.432, 21.802, 18.917, 106.734, 168.909, -67.647]

**Tulos**

60.085

**Esimerkki 0,622**

[111.553, 152.793, -88.779, 161.076, 75.955, 155.371]

**Tulos**

94.662

**Esimerkki 0,623**

[-7.209, -20.712, 59.85, 122.982, 157.661, -81.04, 174.833, 167.565, 156.9]

**Tulos**

81.203

**Esimerkki 0,624**

[139.238, 225.164, -21.563, -22.339, -77.136, 96.772, -40.208, 121.974, 228.852]

**Tulos**

72.306

**Esimerkki 0,625**

[216.276, 111.324, 235.092, 145.323, 113.295, 114.126]

**Tulos**

155.906

**Esimerkki 0,626**

[-70.363, 139.607, 205.517, -20.302, 122.971, 169.618]

**Tulos**

91.175

**Esimerkki 0,627**

[159.4, 171.158, 208.441, 137.746, 78.097, 223.679, 142.855, 50.38, 165.77, 228.185]

**Tulos**

156.571

**Esimerkki 0,628**

[213.406, 39.367, 42.708, 119.202]

**Tulos**

103.671

**Esimerkki 0,629**

[189.582, 224.28, 95.118, 142.73, 66.62]

**Tulos**

143.666

**Esimerkki 0.630**

[17.853, -53.643, -51.456, 247.043, 152.446, 159.308]

**Tulos**

78.592

**Esimerkki 0,631**

[-82.177, 125.682, 165.758, -60.947, 201.713, -37.733, -24.461, 75.864, 193.276, 231.2]

**Tulos**

78.818

**Esimerkki 0,632**

[-51.927, 238.594, 200.831, 106.576]

**Tulos**

123.518

**Esimerkki 0,633**

[13.975, 65.09, 177.806, 134.928, -81.761, -3.372, 130.448, -6.825]

**Tulos**

53.786

**Esimerkki 0,634**

[193.506, 145.362, 144.533, -14.497, 22.442, -5.632, -5.134]

**Tulos**

68.654

**Esimerkki 0,635**

[241.627, 70.458, 163.838]

**Tulos**

158.641

**Esimerkki 0,636**

[198.636, 219.816, -72.64, 51.706]

**Tulos**

99.38

**Esimerkki 0,637**

[225.225, 136.237, 86.8, 66.145, 204.966, 11.107, 236.475, 1.077]

**Tulos**

121.004

**Esimerkki 0,638**

[54.839, 141.492, 238.156, 158.42, 36.744, -88.884, 25.368, 170.251]

**Tulos**

92.048

**Esimerkki 0,639**

[-79.597, 26.839, 178.556, -5.626, -37.294, 232.757, 136.684]

**Tulos**

64.617

**Esimerkki 0.640**

[241.99, 85.211, 6.182, 0.457, 228.909, -15.889]

**Tulos**

91.143

**Esimerkki 0,641**

[149.549, 193.766, 213.52, 76.43, 125.287]

**Tulos**

151.71

**Esimerkki 0.642**

[78.782, 45.834, 148.226, 183.431]

**Tulos**

114.068

**Esimerkki 0,643**

[-20.618, 188.082, 108.928, 56.291, 121.601, 193.406, 81.14, -60.34, 162.33, -71.764]

**Tulos**

75.906

**Esimerkki 0,644**

[165.647, 110.893, -83.152, -56.699, 19.53, 48.825, -64.043, 199.192, 249.46, 244.789]

**Tulos**

83.444

**Esimerkki 0,645**

[-32.821, 152.902]

**Tulos**

60.04

**Esimerkki 0,646**

[223.955, 41.858, -54.86, 8.742, 110.448]

**Tulos**

66.029

**Esimerkki 0,647**

[57.157, 114.845, 139.172, -10.388, 41.101, 199.327, -5.868]

**Tulos**

76.478

**Esimerkki 0,648**

[135.67, -94.642, 216.725, 174.675, -5.11, 0.987, 127.2, -16.118]

**Tulos**

67.423

**Esimerkki 0,649**

[25.376, -54.91, 109.488, -46.844, 38.465, 240.978, 145.35]

**Tulos**

65.415

**Esimerkki 0,650**

[90.323, 130.001, 47.957]

**Tulos**

89.427

**Esimerkki 0,651**

[84.444, 53.979, -73.239, 22.678, 152.957, -19.951, 24.166, 168.351, -53.939]

**Tulos**

39.938

**Esimerkki 0,652**

[-34.349, 130.564, 245.962, -83.044, -36.899, 235.343, -56.512, 184.131, -56.903]

**Tulos**

58.699

**Esimerkki 0,653**

[199.533, 242.839]

**Tulos**

221.186

**Esimerkki 0,654**

[189.707, 116.173, 33.761, 144.444, 207.418, 75.646, 212.298, -57.764]

**Tulos**

115.21

**Esimerkki 0,655**

[99.188, -60.577, -70.541]

**Tulos**

-10.643

**Esimerkki 0,656**

[110.579, 216.923, 236.501, 232.134, 133.253, 118.158, -52.358]

**Tulos**

142.17

**Esimerkki 0,657**

[176.017, -45.57]

**Tulos**

65.224

**Esimerkki 0,658**

[57.413, -21.735, 124.948]

**Tulos**

53.542

**Esimerkki 0,659**

[-69.962, -17.076, -22.652, 238.589, 160.013, 17.906, 116.971]

**Tulos**

60.541

**Esimerkki 0.660**

[85.234, 157.251, 147.966]

**Tulos**

130.15

**Esimerkki 0,661**

[196.779, 188.181, -17.826, 94.998, 154.887]

**Tulos**

123.404

**Esimerkki 0,662**

[37.653, -0.882, 60.801, -86.383, -94.819, 155.082]

**Tulos**

11.909

**Esimerkki 0,663**

[126.073, 184.897, -84.713]

**Tulos**

75.419

**Esimerkki 0,664**

[-19.591, 52.857, -15.963]

**Tulos**

5.768

**Esimerkki 0,665**

[60.791, -35.898, 35.488, 161.144, 61.42, -81.454, 7.482, 166.826, -53.351]

**Tulos**

35.828

**Esimerkki 0,666**

[229.28, 202.632, 129.717, 211.459, 203.204]

**Tulos**

195.258

**Esimerkki 0,667**

[8.149, 138.302]

**Tulos**

73.226

**Esimerkki 0,668**

[-67.768, 5.663, 52.461]

**Tulos**

-3.215

**Esimerkki 0,669**

[-92.758, 186.47, 83.239, -95.255, -14.637, 161.829, 112.07, 227.775, -77.176]

**Tulos**

54.617

**Esimerkki 0,670**

[248.493, 9.572, 206.523, 111.364, -34.439, -62.191]

**Tulos**

79.887

**Esimerkki 0,671**

[74.908, 203.667]

**Tulos**

139.288

**Esimerkki 0,672**

[64.516, 201.858, -76.774, -11.075, 163.238, -61.779, -96.051]

**Tulos**

26.276

**Esimerkki 0,673**

[83.613, 237.517, 102.416, 110.511, 98.16]

**Tulos**

126.443

**Esimerkki 0,674**

[-31.262, -3.222, 72.586]

**Tulos**

12.701

**Esimerkki 0,675**

[164.897, 121.681, 158.263]

**Tulos**

148.28

**Esimerkki 0,676**

[127.245, 216.32, 240.025, 219.568, -77.603, 104.055, 197.515, 165.861, 191.504, 24.445]

**Tulos**

140.893

**Esimerkki 0,677**

[55.77, -79.972, 214.672]

**Tulos**

63.49

**Esimerkki 0,678**

[-16.559, 229.308, 159.453, -13.787, 92.134, 223.041, 10.402, 203.918]

**Tulos**

110.989

**Esimerkki 0,679**

[-51.339, -51.33, 148.948, -78.562, 0.245, 225.421, 57.88, -79.052, -9.079, 164.313]

**Tulos**

32.745

**Esimerkki 0.680**

[119.585, 235.292, 121.008, -36.186]

**Tulos**

109.925

**Esimerkki 0,681**

[61.685, 235.803, 101.887, 132.226, 225.839, -80.401, -62.015, 99.305]

**Tulos**

89.291

**Esimerkki 0,682**

[10.704, -94.107, 76.034, 70.183, 93.339, 58.459]

**Tulos**

35.769

**Esimerkki 0,683**

[115.756, 98.561, 208.286, -6.307, 213.174, 117.811, 84.705, 29.085, 59.322]

**Tulos**

102.266

**Esimerkki 0,684**

[-24.78, 229.62, -66.984, -90.971, 151.261]

**Tulos**

39.629

**Esimerkki 0,685**

[206.001, 238.124, -30.46, 244.986, 214.402]

**Tulos**

174.611

**Esimerkki 0,686**

[148.373, -83.825, 89.807, 149.848, 247.012, 198.749]

**Tulos**

124.994

**Esimerkki 0,687**

[-35.552, 8.944, 194.056, 37.354, -89.884, 126.885]

**Tulos**

40.301

**Esimerkki 0,688**

[148.345, 11.261, 201.116, -89.244, -36.153, 84.065, -8.147, 60.227]

**Tulos**

46.434

**Esimerkki 0,689**

[-83.647, 205.771, -32.768, 197.698, 112.109, -91.453, 219.471, 242.747, 147.634]

**Tulos**

101.951

**Esimerkki 0,690**

[204.228, 203.631, 80.868, 149.678]

**Tulos**

159.601

**Esimerkki 0,691**

[-17.95, 16.889]

**Tulos**

-0.53

**Esimerkki 0,692**

[188.379, 8.747, -6.922, 52.942, 11.742]

**Tulos**

50.978

**Esimerkki 0,693**

[176.618, 118.468]

**Tulos**

147.543

**Esimerkki 0,694**

[-89.064, 229.012, 249.78, 27.102]

**Tulos**

104.208

**Esimerkki 0,695**

[210.524, 246.743, -94.797, 192.394, -38.092, 218.801, 116.293, 42.303, 174.611, -9.802]

**Tulos**

105.898

**Esimerkki 0,696**

[241.388, -37.843, -41.309, 26.588, 138.961, 235.54, -27.509]

**Tulos**

76.545

**Esimerkki 0,697**

[84.13, 59.186, 115.606]

**Tulos**

86.307

**Esimerkki 0,698**

[10.369, 67.912, -40.667, 134.716, -66.642, 73.952, 208.18, -10.322, -15.676, 84.776]

**Tulos**

44.66

**Esimerkki 0,699**

[155.053, 136.113, 102.732, 141.341, 118.119]

**Tulos**

130.672

**Esimerkki 0.700**

[204.618, 145.758, 163.317]

**Tulos**

171.231

**Esimerkki 0.701**

[129.874, 136.761, 11.242, 192.595, 216.126]

**Tulos**

137.32

**Esimerkki 0.702**

[-48.286, 144.173, 76.972, 209.251, -76.306]

**Tulos**

61.161

**Esimerkki 0,703**

[-13.411, 77.937, 17.74, 206.933, -30.457, -61.065, -64.628, 111.316, 133.259]

**Tulos**

41.958

**Esimerkki 0,704**

[242.907, -39.291, 161.97]

**Tulos**

121.862

**Esimerkki 0,705**

[232.39, 28.124, 179.446, 228.788, 90.985, 60.823, 92.908]

**Tulos**

130.495

**Esimerkki 0,706**

[203.649, -89.756, 82.548, -80.391, 23.853, 249.433, 118.863, 171.13, 153.987, 127.428]

**Tulos**

96.074

**Esimerkki 0,707**

[107.878, 206.481, 203.641, -12.48, 175.938]

**Tulos**

136.292

**Esimerkki 0,708**

[237.493, 242.837, -40.238, -67.494, -33.537, 180.7, -5.818, 105.014, 63.452, 146.061]

**Tulos**

82.847

**Esimerkki 0,709**

[213.956, -58.844, 121.865, 74.913, 140.774, 61.082, -72.239, 191.941, 37.032, 238.012]

**Tulos**

94.849

**Esimerkki 0,710**

[203.231, 221.914, 29.718, 204.438, 105.014, -34.976, 5.602, 198.131, 243.99, 99.583]

**Tulos**

127.664

**Esimerkki 0.711**

[135.962, 136.509, 77.88, 148.448]

**Tulos**

124.7

**Esimerkki 0.712**

[-80.984, 148.121, 92.832]

**Tulos**

53.323

**Esimerkki 0,713**

[-13.67, 239.672]

**Tulos**

113.001

**Esimerkki 0,714**

[72.755, 233.932, 245.785, 92.401]

**Tulos**

161.218

**Esimerkki 0,715**

[-8.87, 232.908, 141.714, -47.559, 161.192, 203.441]

**Tulos**

113.804

**Esimerkki 0,716**

[142.225, 243.809, -41.935, 96.795, -99.067, 222.292, 113.486, 143.726]

**Tulos**

102.666

**Esimerkki 0,717**

[169.253, 248.402, 138.613, 144.26, 116.446, -20.712, 98.286, -38.63, 150.489]

**Tulos**

111.823

**Esimerkki 0,718**

[0.714, 191.083, 204.628, 16.665, 242.75, 217.507, 35.562, 27.632, 189.705, 115.146]

**Tulos**

124.139

**Esimerkki 0,719**

[92.973, 105.408, -67.754, -87.587]

**Tulos**

10.76

**Esimerkki 0.720**

[110.71, 192.878, 202.479, -53.421, -50.55, 123.37, 217.183, 46.469, 129.17]

**Tulos**

102.032

**Esimerkki 0,721**

[204.373, 102.204, 192.156, 242.194, -46.256, 48.572, 179.409, -77.044, -2.672, 50.588]

**Tulos**

89.352

**Esimerkki 0,722**

[233.576, -37.102, -33.15, 51.594, -94.938, -78.841, -47.748, 97.964]

**Tulos**

11.419

**Esimerkki 0,723**

[-8.009, -26.452, 64.152, -55.284]

**Tulos**

-6.398

**Esimerkki 0,724**

[79.978, -44.051, 200.217, 142.486, -89.194, 55.999, 165.078, -3.615, 0.12, -44.323]

**Tulos**

46.27

**Esimerkki 0,725**

[-24.889, 69.177, -59.656, 194.519, 211.762, -97.746, 25.388]

**Tulos**

45.508

**Esimerkki 0,726**

[167.421, -6.695, 108.904, 145.738, 230.274]

**Tulos**

129.128

**Esimerkki 0,727**

[221.859, 56.728, 114.275, 71.768, -91.382, 134.583, 43.599, 90.369]

**Tulos**

80.225

**Esimerkki 0,728**

[106.869, 162.115, 41.425, -59.411, 49.864, 83.249, -52.071, 239.386]

**Tulos**

71.428

**Esimerkki 0,729**

[-81.517, -41.687, 67.9, 178.747]

**Tulos**

30.861

**Esimerkki 0,730**

[35.927, 151.052]

**Tulos**

93.489

**Esimerkki 0,731**

[249.085, -35.387, -97.119, -33.367, 35.424]

**Tulos**

23.727

**Esimerkki 0,732**

[154.264, 21.323, 234.472, 75.934, 201.278]

**Tulos**

137.454

**Esimerkki 0,733**

[208.063, 235.397, -72.874, -30.061]

**Tulos**

85.131

**Esimerkki 0,734**

[161.316, 16.799]

**Tulos**

89.058

**Esimerkki 0,735**

[141.011, 196.43]

**Tulos**

168.721

**Esimerkki 0,736**

[76.071, 140.473, -53.834, 132.408, 171.396, 71.242, 217.207]

**Tulos**

107.852

**Esimerkki 0,737**

[109.157, -40.759, 74.623]

**Tulos**

47.674

**Esimerkki 0,738**

[-18.016, 247.669, 100.835, 180.329, -11.701, 46.576, 47.896, 175.095, 21.187]

**Tulos**

87.763

**Esimerkki 0,739**

[-7.972, -81.063, 170.32, -72.689, -67.825, -60.014, 181.593, 40.943, -66.977, 164.934]

**Tulos**

20.125

**Esimerkki 0,740**

[38.041, -36.905, 187.562, 5.985, -59.551]

**Tulos**

27.026

**Esimerkki 0,741**

[-91.322, 112.331, 179.888, -42.366, 92.384, 96.908, 78.247, 243.896]

**Tulos**

83.746

**Esimerkki 0,742**

[150.089, 204.642, 112.387, 222.318]

**Tulos**

172.359

**Esimerkki 0,743**

[166.37, 129.717, 181.024, -64.757, 36.721, 48.388, 240.775, 59.551]

**Tulos**

99.724

**Esimerkki 0,744**

[187.859, 5.186, 143.174, 14.744, 234.39, 236.253, 168.56, -28.843, 231.697, 148.735]

**Tulos**

134.176

**Esimerkki 0,745**

[107.428, -85.412, 100.879, 236.827, 242.768, 84.249]

**Tulos**

114.456

**Esimerkki 0,746**

[82.522, 85.774, 166.942, 104.506, -79.596, 164.142, -37.274, 71.002]

**Tulos**

69.752

**Esimerkki 0,747**

[11.099, 241.041, 37.863, 231.107, 70.135, -7.678, 64.428, 13.669, -25.742]

**Tulos**

70.658

**Esimerkki 0,748**

[126.494, 226.018, -44.109, 39.672, -78.994, -68.941]

**Tulos**

33.357

**Esimerkki 0,749**

[20.772, 52.496, -98.992, 67.762, 8.283, -40.419, 51.59, 41.582]

**Tulos**

12.884

**Esimerkki 0,750**

[200.289, 141.295, 69.557, 143.508, -49.059, 150.027, 39.627, 104.639, -13.318, -28.732]

**Tulos**

75.783

**Esimerkki 0,751**

[141.597, -13.558, -15.987, -52.44, 77.914]

**Tulos**

27.505

**Esimerkki 0,752**

[145.705, 182.499, -18.461, 155.247, -1.909, 154.099, -70.946, 131.067]

**Tulos**

84.663

**Esimerkki 0,753**

[-47.084, -68.743, 242.164, -96.322, 21.453]

**Tulos**

10.294

**Esimerkki 0,754**

[179.291, -95.14]

**Tulos**

42.076

**Esimerkki 0,755**

[191.486, -13.695, 99.133, 32.922, 151.843, 217.863]

**Tulos**

113.259

**Esimerkki 0,756**

[7.476, 41.098, 201.994, -14.448, 157.389, 242.649, -12.911, -87.946, -97.868, 188.986]

**Tulos**

62.642

**Esimerkki 0,757**

[127.684, -2.957, 222.118, 86.685, 214.179, 231.223, 93.872, 248.742, -95.211]

**Tulos**

125.148

**Esimerkki 0,758**

[49.801, 237.667, 192.311, -37.263, 124.199]

**Tulos**

113.343

**Esimerkki 0,759**

[106.129, 66.672, 176.755, 103.127]

**Tulos**

113.171

**Esimerkki 0.760**

[-44.783, 93.688, 86.748, -66.361, 67.305, 67.248, 176.892, 67.989, 5.83]

**Tulos**

50.506

**Esimerkki 0,761**

[24.058, -52.718, 216.5, 119.501, -96.531]

**Tulos**

42.162

**Esimerkki 0,762**

[152.187, -41.56, 33.202]

**Tulos**

47.943

**Esimerkki 0,763**

[8.653, -8.358, 0.014, 111.749, -69.492, 119.796]

**Tulos**

27.06

**Esimerkki 0,764**

[128.795, 160.268, 205.1, -28.21, -13.043, 69.155, 104.411, -81.247, -32.44]

**Tulos**

56.977

**Esimerkki 0,765**

[42.162, 11.124, 128.973, 19.725, 114.518, -62.445]

**Tulos**

42.343

**Esimerkki 0,766**

[186.232, 96.42]

**Tulos**

141.326

**Esimerkki 0,767**

[220.17, 153.207, 146.433]

**Tulos**

173.27

**Esimerkki 0,768**

[200.039, -28.892, 208.657, -33.337, 78.205, -77.451, 207.664]

**Tulos**

79.269

**Esimerkki 0,769**

[192.831, 75.218, 180.682, 113.455, -84.868]

**Tulos**

95.464

**Esimerkki 0.770**

[-25.603, 134.053]

**Tulos**

54.225

**Esimerkki 0,771**

[182.272, 112.929, 27.098, 105.971]

**Tulos**

107.068

**Esimerkki 0,772**

[-17.682, 37.846, 232.046]

**Tulos**

84.07

**Esimerkki 0,773**

[182.158, 125.276, 213.802]

**Tulos**

173.745

**Esimerkki 0,774**

[159.924, 77.391, 22.518, 3.81]

**Tulos**

65.911

**Esimerkki 0,775**

[228.058, -72.503, 172.225, 166.786, 159.261]

**Tulos**

130.765

**Esimerkki 0,776**

[-54.916, 89.972, -47.975, -51.288, 227.81, 181.078, 244.362]

**Tulos**

84.149

**Esimerkki 0,777**

[14.161, 35.587, -52.481, 13.042, 238.912, 242.094]

**Tulos**

81.886

**Esimerkki 0,778**

[159.397, 45.088, -87.316, 115.267, 227.836, 31.542, 6.515, 159.921, 38.678, 244.63]

**Tulos**

94.156

**Esimerkki 0,779**

[-60.49, -81.703, -53.741]

**Tulos**

-65.311

**Esimerkki 0,780**

[163.343, 9.145, 159.333, 61.419, 88.638, 113.362, -61.247, 89.97]

**Tulos**

77.995

**Esimerkki 0,781**

[133.601, 21.981]

**Tulos**

77.791

**Esimerkki 0,782**

[-57.185, 164.836, -95.204, 225.922, -60.206, -55.818, -27.598]

**Tulos**

13.535

**Esimerkki 0,783**

[118.589, 122.364, 122.714, 15.667, -37.457]

**Tulos**

68.375

**Esimerkki 0.784**

[223.683, -95.267]

**Tulos**

64.208

**Esimerkki 0,785**

[85.006, -82.896, 94.851, 221.383]

**Tulos**

79.586

**Esimerkki 0,786**

[-85.761, 89.449]

**Tulos**

1.844

**Esimerkki 0,787**

[-48.035, 125.922, -97.518]

**Tulos**

-6.544

**Esimerkki 0,788**

[138.63, 106.759, 86.625]

**Tulos**

110.671

**Esimerkki 0,789**

[-18.07, -60.387, -14.055, -9.29]

**Tulos**

-25.45

**Esimerkki 0,790**

[-72.21, 23.638, -66.339, 237.555]

**Tulos**

30.661

**Esimerkki 0,791**

[177.972, -71.378, -11.434, -0.693, 242.976, 212.286]

**Tulos**

91.622

**Esimerkki 0,792**

[240.773, -9.935, 43.299, -79.994, 97.768]

**Tulos**

58.382

**Esimerkki 0,793**

[81.485, -64.06, 103.067]

**Tulos**

40.164

**Esimerkki 0,794**

[-44.309, 54.255]

**Tulos**

4.973

**Esimerkki 0,795**

[244.863, -29.235, 123.844, -22.648, 49.14, 22.158]

**Tulos**

64.687

**Esimerkki 0,796**

[81.595, 216.575, 226.88, -82.428, 212.015, 6.748, 196.367, -63.121]

**Tulos**

99.329

**Esimerkki 0,797**

[57.101, 41.773, 27.48, 150.641, 128.403, 92.311, 90.279, 160.871]

**Tulos**

93.607

**Esimerkki 0,798**

[209.102, 151.807, -54.152, 168.594, 230.969, 40.628]

**Tulos**

124.491

**Esimerkki 0,799**

[144.894, 100.83]

**Tulos**

122.862

**Esimerkki 0.800**

[200.115, 139.316]

**Tulos**

169.716

**Esimerkki 0.801**

[-36.906, 19.987, 244.883, 144.051, 70.162, 63.27]

**Tulos**

84.241

**Esimerkki 0.802**

[156.962, -39.015, -89.51, 232.862, 240.492, -85.185, 212.782, -42.154]

**Tulos**

73.404

**Esimerkki 0,803**

[242.136, 31.826, -28.3, -15.049, -67.016, 215.252, 176.8, 30.502]

**Tulos**

73.269

**Esimerkki 0,804**

[170.618, -94.486, 9.516, -85.285, -34.259, 25.357]

**Tulos**

-1.423

**Esimerkki 0,805**

[123.821, -2.509, -90.635, -97.465, 5.793, 46.949, -96.586]

**Tulos**

-15.805

**Esimerkki 0,806**

[105.239, 215.988, 207.513, 161.111, 214.529, 232.214, 129.468, 240.417]

**Tulos**

188.31

**Esimerkki 0,807**

[208.67, 149.285, 234.484, 13.637, 154.501, 65.262]

**Tulos**

137.64

**Esimerkki 0,808**

[93.243, 124.176, -14.427, 115.214, 138.236]

**Tulos**

91.288

**Esimerkki 0,809**

[113.25, 20.985, 192.351, 206.308, 95.11, 92.787, -16.318, 172.167]

**Tulos**

109.58

**Esimerkki 0.810**

[-96.182, -37.177, 130.645, -44.92, -12.78, 90.335, -99.791, -11.926, 217.275]

**Tulos**

15.053

**Esimerkki 0.811**

[-40.246, -7.512, 174.245, -98.6]

**Tulos**

6.972

**Esimerkki 0.812**

[38.382, -13.844, 187.259, 143.714, -34.901, 23.234, 192.579, 52.272, 72.299]

**Tulos**

73.444

**Esimerkki 0,813**

[223.377, 111.828, 183.526, -51.152]

**Tulos**

116.895

**Esimerkki 0.814**

[-39.639, 125.531, 174.5, 198.408]

**Tulos**

114.7

**Esimerkki 0,815**

[240.957, 164.198, 58.237, 234.211, 41.052]

**Tulos**

147.731

**Esimerkki 0.816**

[149.739, -36.895, 224.494, 183.888, 76.457, 207.401, -53.838, 249.378, 161.735, 216.549]

**Tulos**

137.891

**Esimerkki 0,817**

[-94.407, 128.187, -51.521, 7.074, 145.756, 208.266, 173.062]

**Tulos**

73.774

**Esimerkki 0,818**

[165.23, 195.547, -63.853]

**Tulos**

98.975

**Esimerkki 0,819**

[97.722, -77.693]

**Tulos**

10.014

**Esimerkki 0,820**

[120.751, 135.859, 38.596, 72.071]

**Tulos**

91.819

**Esimerkki 0,821**

[44.81, 156.742, 144.699, 147.825, 6.656, 120.709, 123.572]

**Tulos**

106.43

**Esimerkki 0,822**

[-62.383, 6.851, -23.476, -11.502, 90.594, 44.388, 118.076, 144.472, 106.395]

**Tulos**

45.935

**Esimerkki 0,823**

[231.74, 142.135, 60.231, -34.154, 111.503, -84.615, 186.711, 52.235, 43.888, -20.096]

**Tulos**

68.958

**Esimerkki 0,824**

[82.702, -59.864, -41.021, 73.348, 172.105, 85.857, 96.462, 15.883, -64.119, 124.654]

**Tulos**

48.601

**Esimerkki 0,825**

[249.14, 22.177]

**Tulos**

135.658

**Esimerkki 0,826**

[230.134, 248.012, 151.108, 157.411, 183.633]

**Tulos**

194.06

**Esimerkki 0,827**

[-73.671, 180.791, -77.639, 102.188]

**Tulos**

32.917

**Esimerkki 0,828**

[38.015, 202.242, 68.286, 170.779, 62.891, 161.487, 79.159, -30.986]

**Tulos**

93.984

**Esimerkki 0,829**

[-98.69, -9.429, 137.637, 11.095, 31.581, -54.876, -62.991, 132.5, 140.025]

**Tulos**

25.206

**Esimerkki 0,830**

[246.735, -32.796, 24.225, 130.226, 154.003, 133.547, -69.625, 193.862, 198.93, 176.592]

**Tulos**

115.57

**Esimerkki 0,831**

[131.353, 22.86, 232.059, 172.535]

**Tulos**

139.702

**Esimerkki 0,832**

[75.577, -33.878, 133.731, 34.577, 122.825]

**Tulos**

66.566

**Esimerkki 0,833**

[185.849, 12.232, -37.465]

**Tulos**

53.539

**Esimerkki 0,834**

[217.458, 224.557, 176.324, -19.725]

**Tulos**

149.653

**Esimerkki 0,835**

[-96.578, 182.584]

**Tulos**

43.003

**Esimerkki 0,836**

[150.321, 169.658, 221.448, 54.785, 160.245, 9.534, 78.865, 229.753, 225.969]

**Tulos**

144.509

**Esimerkki 0,837**

[154.314, -70.679, 147.938, 180.23, 193.971, 101.863, -36.597, 86.231, -31.851, 58.139]

**Tulos**

78.356

**Esimerkki 0,838**

[83.391, -50.946, -98.829, 210.711, 99.016, 235.627, 242.823]

**Tulos**

103.113

**Esimerkki 0,839**

[184.067, 21.475, 75.367, -58.08, -19.607, 83.468]

**Tulos**

47.782

**Esimerkki 0.840**

[172.217, -19.084, 177.99, 117.569, 236.609, -18.496]

**Tulos**

111.134

**Esimerkki 0,841**

[162.908, -23.953, 124.76, 64.152]

**Tulos**

81.967

**Esimerkki 0,842**

[-84.874, 212.839, 150.182]

**Tulos**

92.716

**Esimerkki 0,843**

[238.923, 74.8, 61.228, 127.613]

**Tulos**

125.641

**Esimerkki 0,844**

[-63.155, -44.527, -20.524, 132.804, 26.494, -35.069, 224.395, 173.423]

**Tulos**

49.23

**Esimerkki 0,845**

[-67.921, 180.809, 169.443, 138.94, 107.853, -32.045]

**Tulos**

82.846

**Esimerkki 0,846**

[170.922, 210.66, 36.664]

**Tulos**

139.415

**Esimerkki 0,847**

[168.208, 144.307, -47.446, -85.06, -45.4, -38.008]

**Tulos**

16.1

**Esimerkki 0,848**

[53.598, 147.197, 79.626]

**Tulos**

93.474

**Esimerkki 0,849**

[77.985, 158.528, -67.217, 176.744, 204.76]

**Tulos**

110.16

**Esimerkki 0.850**

[19.301, -72.073, 13.843, -39.036, 23.681, 43.138, 172.434, -31.68]

**Tulos**

16.201

**Esimerkki 0,851**

[38.065, 105.118, 236.473, 238.321, 168.164, 171.968, 34.444, 216.714]

**Tulos**

151.158

**Esimerkki 0,852**

[120.774, 80.242, 44.139]

**Tulos**

81.718

**Esimerkki 0,853**

[-16.652, 0.354, 3.632, 38.943, -68.292]

**Tulos**

-8.403

**Esimerkki 0,854**

[50.657, 19.892, 224.131, 193.253, 194.838]

**Tulos**

136.554

**Esimerkki 0,855**

[127.638, 98.834, 122.644, 202.737, 231.832, 188.458, 194.475, -9.764, 39.303]

**Tulos**

132.906

**Esimerkki 0,856**

[-56.947, -16.775, 192.173, 78.808, 194.151]

**Tulos**

78.282

**Esimerkki 0,857**

[170.317, 170.775, -81.088, -94.652, 161.178, -35.834, 149.969]

**Tulos**

62.952

**Esimerkki 0,858**

[98.762, 150.27, 18.724]

**Tulos**

89.252

**Esimerkki 0,859**

[114.166, 181.338, -42.977, 213.457, 239.234]

**Tulos**

141.044

**Esimerkki 0,860**

[-60.466, 109.906, 198.964, 97.457, -70.924, -46.929, 55.528, 147.605]

**Tulos**

53.893

**Esimerkki 0,861**

[52.156, 45.137, 132.517, -93.142, 162.396, 27.849, 37.102, 173.1, -99.134, 63.899]

**Tulos**

50.188

**Esimerkki 0,862**

[51.455, 84.02, 192.884, 197.216, 4.149, -1.558, 97.546, 75.979, -81.102]

**Tulos**

68.954

**Esimerkki 0,863**

[156.559, 58.798]

**Tulos**

107.678

**Esimerkki 0,864**

[-42.956, 89.597, -60.477, 101.972, 77.479]

**Tulos**

33.123

**Esimerkki 0,865**

[-7.656, 27.113, -46.094, -88.382, 148.986, -55.66, 133.332, -5.579, 54.5]

**Tulos**

17.84

**Esimerkki 0,866**

[36.915, -90.664, 43.527, 134.093, -45.211, -99.342, -96.826]

**Tulos**

-16.787

**Esimerkki 0,867**

[119.45, -89.796, 210.425, -80.255]

**Tulos**

39.956

**Esimerkki 0,868**

[236.267, 92.062, -95.005, -85.155, 120.483]

**Tulos**

53.73

**Esimerkki 0,869**

[190.63, 111.59, 116.688, -37.764, 230.151, 149.484]

**Tulos**

126.797

**Esimerkki 0,870**

[-23.056, 24.547, 162.936, -98.987, 215.764, 244.802, 66.802, -3.494, 125.067]

**Tulos**

79.376

**Esimerkki 0,871**

[163.252, 141.323, 146.698, 237.696, -32.5, 190.611, -32.68, 94.197, 29.408]

**Tulos**

104.223

**Esimerkki 0,872**

[-89.748, 174.768, -88.393, -95.667, 30.082, -64.834, -2.043]

**Tulos**

-19.405

**Esimerkki 0,873**

[174.312, 144.067]

**Tulos**

159.19

**Esimerkki 0,874**

[153.935, -40.313, 62.549, 104.111, -87.696, 83.206, 18.682, -82.708, 241.124, -28.375]

**Tulos**

42.451

**Esimerkki 0,875**

[118.478, -55.08, -38.645, 58.198, 232.276, 107.542, 117.488, -37.639]

**Tulos**

62.827

**Esimerkki 0,876**

[-60.331, -47.903, -86.161, -52.935]

**Tulos**

-61.832

**Esimerkki 0,877**

[-95.352, -26.358, 34.234, 162.959, 239.101, 137.014]

**Tulos**

75.266

**Esimerkki 0,878**

[134.202, 124.439, -12.212, 205.224]

**Tulos**

112.913

**Esimerkki 0,879**

[89.062, 112.973, -83.064, 51.297, 52.458, 38.609, 211.119, 11.127, 158.686]

**Tulos**

71.363

**Esimerkki 0,880**

[-72.328, 111.574, 221.763, 157.184]

**Tulos**

104.548

**Esimerkki 0,881**

[-19.96, 96.791, 76.101, -30.623]

**Tulos**

30.577

**Esimerkki 0,882**

[-0.575, 93.345, -30.027, 195.567, -72.269, -48.251]

**Tulos**

22.965

**Esimerkki 0,883**

[-20.611, 25.266, 23.431, -15.88, 6.042, 205.819, 86.474, 92.211]

**Tulos**

50.344

**Esimerkki 0,884**

[-71.994, 198.302, 185.206, 247.465, -4.328, -47.474, -94.828]

**Tulos**

58.907

**Esimerkki 0,885**

[-14.37, -38.007, 3.969]

**Tulos**

-16.136

**Esimerkki 0,886**

[-67.391, 16.577, 154.11]

**Tulos**

34.432

**Esimerkki 0,887**

[193.221, 66.135, 128.751, -31.784, 197.189]

**Tulos**

110.702

**Esimerkki 0.888**

[160.713, 125.985, 186.982, -94.178, 183.77]

**Tulos**

112.654

**Esimerkki 0,889**

[209.45, 150.578, 223.793, 129.673, 104.211, 55.63, 103.41, -68.055]

**Tulos**

113.586

**Esimerkki 0,890**

[-29.82, 40.919]

**Tulos**

5.549

**Esimerkki 0,891**

[164.647, 208.487, 225.23, -9.837, 75.508, 231.456, 21.172, -77.569, 4.399]

**Tulos**

93.721

**Esimerkki 0,892**

[34.49, 129.304, -5.901, -26.665, 222.885, 64.848, 44.983, -87.1]

**Tulos**

47.106

**Esimerkki 0,893**

[-54.698, -60.275, -92.48, 95.954, 34.173]

**Tulos**

-15.465

**Esimerkki 0,894**

[118.492, 1.091, 137.52, 118.885, 240.197, 125.09, 56.541, 194.576, 150.246]

**Tulos**

126.96

**Esimerkki 0,895**

[-15.578, -71.684, 218.783]

**Tulos**

43.84

**Esimerkki 0,896**

[69.55, 72.755, 169.427, 36.399]

**Tulos**

87.033

**Esimerkki 0,897**

[229.922, 78.509, 205.143]

**Tulos**

171.191

**Esimerkki 0,898**

[-30.813, 30.325, 17.44, 231.059, 105.014, 210.93, 113.827, 159.848]

**Tulos**

104.704

**Esimerkki 0,899**

[52.7, 84.079, 117.951, 114.781, -56.099, 28.991, -32.33]

**Tulos**

44.296

**Esimerkki 0.900**

[16.214, 197.396, -39.565, 137.397, 224.751, 2.903, 230.131]

**Tulos**

109.89

**Esimerkki 0.901**

[60.119, 36.842, 127.284, 192.669, -29.22, 197.72, -78.172, 102.235]

**Tulos**

76.185

**Esimerkki 0.902**

[65.937, -21.9, 240.823]

**Tulos**

94.953

**Esimerkki 0,903**

[-6.868, 59.934]

**Tulos**

26.533

**Esimerkki 0,904**

[148.784, 235.3, 239.053]

**Tulos**

207.712

**Esimerkki 0,905**

[145.229, 156.739, -41.538, 174.174, 110.461, 203.548, 204.579, -25.663, -92.365]

**Tulos**

92.796

**Esimerkki 0,906**

[-62.905, -57.494, -88.456, -81.152]

**Tulos**

-72.502

**Esimerkki 0,907**

[-6.326, 226.925, 127.751, -28.03, 116.327, -48.621, 88.982, -14.298]

**Tulos**

57.839

**Esimerkki 0,908**

[196.039, 3.13, 126.743, 27.727]

**Tulos**

88.41

**Esimerkki 0,909**

[-5.869, 241.516, 59.928, 122.653, 207.733, 148.137]

**Tulos**

129.016

**Esimerkki 0,910**

[20.574, 6.221, 203.153, -18.397, -97.477, -81.954, 173.713, 161.705, 62.545, 74.868]

**Tulos**

50.495

**Esimerkki 0.911**

[247.332, 97.053, 43.697, 51.168, -56.25, 163.444]

**Tulos**

91.074

**Esimerkki 0.912**

[233.835, 33.626, 110.976, 132.274, 152.818]

**Tulos**

132.706

**Esimerkki 0,913**

[53.339, -25.165, 198.489, -1.704, 19.883, 53.586, 60.527, -92.041, 59.494, 138.565]

**Tulos**

46.497

**Esimerkki 0,914**

[87.927, 155.099, 229.061, 41.921]

**Tulos**

128.502

**Esimerkki 0,915**

[-94.198, 154.271, 120.59, -57.478]

**Tulos**

30.796

**Esimerkki 0,916**

[-0.982, 43.502, 158.917, 211.201, -51.77, -52.54, -78.002, 51.215, 150.942]

**Tulos**

48.054

**Esimerkki 0,917**

[-12.806, -99.514, 239.3]

**Tulos**

42.327

**Esimerkki 0,918**

[159.111, -68.049]

**Tulos**

45.531

**Esimerkki 0,919**

[-94.678, 157.073, -42.503, 158.208, -66.687, 218.141, -38.499, 149.969]

**Tulos**

55.128

**Esimerkki 0.920**

[133.83, 197.316, 12.833, 184.319, -40.383, 246.592, 21.652, -3.563]

**Tulos**

94.074

**Esimerkki 0,921**

[157.698, -83.507, 141.402, 225.13, 185.354, 235.428, -7.038]

**Tulos**

122.067

**Esimerkki 0,922**

[58.969, -18.162, 244.152, -7.49, -94.239, 70.388, 168.163, 37.53]

**Tulos**

57.414

**Esimerkki 0,923**

[-82.27, 221.416, 244.568, 148.774]

**Tulos**

133.122

**Esimerkki 0,924**

[56.202, 53.384, 121.133, -81.48, 215.568, 43.98]

**Tulos**

68.131

**Esimerkki 0,925**

[25.155, 237.342, 39.319, 42.962, 13.508, -47.345, 78.939, 26.554]

**Tulos**

52.054

**Esimerkki 0,926**

[46.584, 183.883, -76.45, 153.976, 150.492, -32.622, 109.444, 15.83, 161.236]

**Tulos**

79.153

**Esimerkki 0,927**

[34.842, 115.829, 62.148, 202.664, -84.382, 72.455, -0.305, -1.396, 112.898, 191.272]

**Tulos**

70.602

**Esimerkki 0,928**

[214.156, 31.606, -72.608, -59.799, -54.565, 28.815, 62.658, 165.368, -63.207, 35.462]

**Tulos**

28.789

**Esimerkki 0,929**

[110.383, 6.187, 220.867, 86.07, 180.686, -74.519]

**Tulos**

88.279

**Esimerkki 0,930**

[-33.609, 163.86, -20.657, 121.821, 205.856, 88.277, -93.024, 8.641, 200.345, 101.194]

**Tulos**

74.27

**Esimerkki 0,931**

[133.784, 42.281, -25.121, 190.377, 179.979, 210.94, 213.849, 145.965]

**Tulos**

136.507

**Esimerkki 0,932**

[-81.615, 70.057, -34.973, -14.992, 107.616, 211.919, 60.971, 223.577, 75.461]

**Tulos**

68.669

**Esimerkki 0,933**

[-63.25, 158.312, 6.688, 76.184, -35.6, 121.994, -20.871, 45.703, 22.375, 123.93]

**Tulos**

43.546

**Esimerkki 0,934**

[229.735, 96.322, 26.263, 27.649]

**Tulos**

94.992

**Esimerkki 0,935**

[-26.768, 220.351, -67.828, 245.009]

**Tulos**

92.691

**Esimerkki 0,936**

[120.868, 165.69, 184.06, 134.776, -65.284, 128.806, 145.072, 194.36]

**Tulos**

126.044

**Esimerkki 0,937**

[-29.74, -41.589, 36.122]

**Tulos**

-11.736

**Esimerkki 0,938**

[-71.166, 1.639, 40.61, 149.428]

**Tulos**

30.128

**Esimerkki 0,939**

[9.625, -27.168, -78.835, 117.698, -73.784, 146.253, -90.405, 134.54, 55.581, 205.402]

**Tulos**

39.891

**Esimerkki 0,940**

[249.699, 132.936, 66.151, -21.391, -28.243, 122.253]

**Tulos**

86.901

**Esimerkki 0,941**

[185.771, 207.565, 244.271, -76.88, 30.914, 111.623, 132.737, -52.575, 6.605, 218.602]

**Tulos**

100.863

**Esimerkki 0,942**

[-3.165, 73.188]

**Tulos**

35.012

**Esimerkki 0,943**

[133.16, 81.145, 146.723, -65.282, -94.442, -11.916, 76.301, 213.8]

**Tulos**

59.936

**Esimerkki 0,944**

[-90.567, 142.153, 20.913, 8.743]

**Tulos**

20.31

**Esimerkki 0,945**

[233.962, 4.931, -53.699, 212.744, 50.622, 179.646, 115.708, -94.893, 116.1, -81.4]

**Tulos**

68.372

**Esimerkki 0,946**

[82.517, -30.082, 53.185, -65.071, 2.246, 182.289, 20.654, -49.08, 127.627, -44.969]

**Tulos**

27.932

**Esimerkki 0,947**

[-14.662, -5.236, 94.883, 73.303, 205.461, 42.884, -83.078]

**Tulos**

44.794

**Esimerkki 0,948**

[16.489, 13.77, -35.768, 59.656, 212.129, 55.812, 200.123]

**Tulos**

74.602

**Esimerkki 0,949**

[30.344, -97.946, -37.956, 243.227, 176.233, 224.212, -36.538, -92.294, 161.219]

**Tulos**

63.389

**Esimerkki 0,950**

[232.585, 226.948]

**Tulos**

229.766

**Esimerkki 0,951**

[153.037, -3.185, 41.059, 16.251, -2.012, 247.965, 87.073]

**Tulos**

77.17

**Esimerkki 0,952**

[148.014, 208.99, 215.84, 232.402, 239.919, -69.156]

**Tulos**

162.668

**Esimerkki 0,953**

[179.46, 15.254, 229.089, 17.086, 21.016, 43.478, 162.183, -77.907, 114.296]

**Tulos**

78.217

**Esimerkki 0,954**

[78.91, 105.561, 100.189]

**Tulos**

94.887

**Esimerkki 0,955**

[208.977, 44.479, 123.76, 31.562, 80.258, -34.378, 186.971, 7.439, -99.637]

**Tulos**

61.048

**Esimerkki 0,956**

[47.399, 90.972, 119.099, 171.723, 24.335]

**Tulos**

90.706

**Esimerkki 0,957**

[-56.705, -84.579, 55.818, 22.474, 152.855, 132.182]

**Tulos**

37.008

**Esimerkki 0,958**

[84.339, 13.576, 175.748, -93.474, 82.773, -3.642, 177.391]

**Tulos**

62.387

**Esimerkki 0,959**

[176.299, 191.524, 122.626, 122.443, 115.436, -30.671, -96.353, 168.733]

**Tulos**

96.255

**Esimerkki 0,960**

[128.018, 92.344, 8.722, 77.909]

**Tulos**

76.748

**Esimerkki 0,961**

[-5.696, 66.229, -87.844, 158.917, -53.637, 98.651]

**Tulos**

29.437

**Esimerkki 0,962**

[93.048, 173.783, 88.736, -95.085, -77.155, -2.381, -84.313]

**Tulos**

13.805

**Esimerkki 0,963**

[-42.863, 70.551, 212.747]

**Tulos**

80.145

**Esimerkki 0,964**

[3.21, 2.783, 55.602, 189.097, 111.357, -44.728, 209.913, -20.324, -71.218]

**Tulos**

48.41

**Esimerkki 0,965**

[85.166, 231.233, -43.17, 185.268, 13.015, 22.189, 224.827, -77.577, 7.108, 9.902]

**Tulos**

65.796

**Esimerkki 0,966**

[68.74, 109.962, 72.151, 23.206]

**Tulos**

68.515

**Esimerkki 0,967**

[224.686, 145.683, 220.634, 227.57, 94.641, 119.892, -82.127, 141.411, 223.394]

**Tulos**

146.198

**Esimerkki 0,968**

[-10.586, 79.912, 162.956, 62.621, 20.17, 175.22, 19.366, 134.958, 136.12]

**Tulos**

86.749

**Esimerkki 0,969**

[195.742, 80.759, 238.547, 1.412, 208.973, -89.236, -62.533, -90.54, -34.505]

**Tulos**

49.847

**Esimerkki 0,970**

[85.537, 200.906, -25.941, 143.697, -3.166, 120.645, -3.838, 211.155, 171.715, -45.158]

**Tulos**

85.555

**Esimerkki 0,971**

[119.685, 160.143, -82.61, -68.322, -60.592, 214.065, 20.136, 136.226]

**Tulos**

54.841

**Esimerkki 0,972**

[175.999, -88.6, 214.299, -54.48, -17.619, 209.606]

**Tulos**

73.201

**Esimerkki 0,973**

[214.49, -47.491, 163.344, 186.074, 162.784, 22.389]

**Tulos**

116.932

**Esimerkki 0,974**

[106.046, 223.433, 166.438, 186.429, 71.013]

**Tulos**

150.672

**Esimerkki 0,975**

[68.02, 232.235, 229.504, 23.444, 229.891, -34.877]

**Tulos**

124.703

**Esimerkki 0,976**

[49.033, -66.952, 1.309, -1.053, 182.461, 144.872, -53.64]

**Tulos**

36.576

**Esimerkki 0,977**

[7.525, -75.098, 180.37]

**Tulos**

37.599

**Esimerkki 0.978**

[215.084, 106.628, -71.433, -27.602, 213.328, 109.156, -37.15, 176.046, 182.021]

**Tulos**

96.231

**Esimerkki 0,979**

[56.057, 30.348, 22.204, 223.101, 202.967, 93.387]

**Tulos**

104.677

**Esimerkki 0,980**

[91.733, 140.433, -46.353, 245.838, -16.87]

**Tulos**

82.956

**Esimerkki 0,981**

[126.927, 167.038, -65.964, 30.581, 109.349, 14.55, 76.625]

**Tulos**

65.587

**Esimerkki 0,982**

[47.472, 51.734, 212.407, 49.822, 167.506, 124.618, 35.356]

**Tulos**

98.416

**Esimerkki 0,983**

[-9.018, 244.418, 30.094, 116.769, -35.584, 8.008, 32.91, -74.622]

**Tulos**

39.122

**Esimerkki 0,984**

[-74.782, -33.512, 229.398, -86.473, 141.302, 69.678]

**Tulos**

40.935

**Esimerkki 0,985**

[151.554, 128.642, 208.429, 238.617, 3.405, 227.536, -77.163, -75.497, 95.605, 2.315]

**Tulos**

90.344

**Esimerkki 0,986**

[44.634, 6.553]

**Tulos**

25.594

**Esimerkki 0,987**

[107.854, 107.34, 77.982]

**Tulos**

97.725

**Esimerkki 0,988**

[149.469, 154.608]

**Tulos**

152.038

**Esimerkki 0,989**

[68.917, 24.2, -79.923, 72.791, -85.781, 45.312, 228.983, 9.727, 2.077]

**Tulos**

31.811

**Esimerkki 0.990**

[23.736, -34.65, 69.297]

**Tulos**

19.461

**Esimerkki 0,991**

[59.291, 108.572, 120.13]

**Tulos**

95.998

**Esimerkki 0,992**

[127.829, 9.672, -71.613, 86.286, 6.641]

**Tulos**

31.763

**Esimerkki 0,993**

[85.354, -22.629, 51.171, 238.376, 177.126, -90.135, -84.086, 175.426, -80.74]

**Tulos**

49.985

**Esimerkki 0,994**

[15.636, 19.433]

**Tulos**

17.534

**Esimerkki 0,995**

[-22.677, 194.105, 74.714, -74.308, 247.931, 103.657, 48.012]

**Tulos**

81.633

**Esimerkki 0,996**

[198.174, 132.681, 9.475, 22.266, 112.774, 81.206]

**Tulos**

92.763

**Esimerkki 0,997**

[190.029, 129.626]

**Tulos**

159.828

**Esimerkki 0,998**

[-67.543, 138.788, 83.985, 131.939, 136.817, 176.185, 131.14]

**Tulos**

104.473

**Esimerkki 0,999**

[-17.064, 1.578, 120.654, -50.179, 111.345, 76.062, 132.241, 22.805, 30.414]

**Tulos**

47.54

**Esimerkki 0.1000**

[-62.125, 109.11]

**Tulos**

23.492

**Esimerkki 0.1001**

[221.909, 38.36, -62.81, 132.751, -26.003, -12.857, 158.23, 243.071, 86.875, 71.632]

**Tulos**

85.116

**Esimerkki 0.1002**

[69.981, 92.36, 162.843, -8.857]

**Tulos**

79.082

**Esimerkki 0.1003**

[41.489, 160.454, 225.667, 168.828, 58.62, 231.191]

**Tulos**

147.708

**Esimerkki 0.1004**

[29.845, 38.914, 230.305, 97.028, 164.657, -91.808]

**Tulos**

78.157

**Esimerkki 0,1005**

[48.186, 225.995, -61.872, -44.648, -19.732, -80.251]

**Tulos**

11.28

**Esimerkki 0.1006**

[246.816, 165.531, 73.734, 9.635, 157.635, 246.016, 160.622, 173.394]

**Tulos**

154.173

**Esimerkki 0.1007**

[-60.032, 28.277, 27.543, 171.375, 97.776, -77.308]

**Tulos**

31.272

**Esimerkki 0.1008**

[168.038, 68.021, 28.233, -85.98, 20.296]

**Tulos**

39.722

**Esimerkki 0.1009**

[-24.715, 212.353, 112.728, 199.732, 245.806, 194.54, 98.658, 249.16, 225.633, -58.661]

**Tulos**

145.523

**Esimerkki 0.1010**

[-81.46, 12.789, 157.191, 172.724, 36.927]

**Tulos**

59.634

**Esimerkki 0.1011**

[186.218, 169.514, 33.47]

**Tulos**

129.734

**Esimerkki 0.1012**

[9.795, -75.422, 89.97]

**Tulos**

8.114

**Esimerkki 0.1013**

[2.826, 140.575, -33.207, 75.373]

**Tulos**

46.392

**Esimerkki 0.1014**

[137.218, 44.779, 171.36, 92.564, 145.911, 204.559, 142.86]

**Tulos**

134.179

**Esimerkki 0,1015**

[131.159, 191.815, 192.95, 5.04, -92.196, 15.588, -79.703, -42.256, 106.662]

**Tulos**

47.673

**Esimerkki 0.1016**

[-46.614, -16.023, 223.487, -76.237, 181.105, 88.893, -71.628, -76.002, 45.858, 247.056]

**Tulos**

49.99

**Esimerkki 0.1017**

[100.094, 181.649, 10.062, 134.305, 189.68]

**Tulos**

123.158

**Esimerkki 0.1018**

[14.991, -71.897, 59.429, -23.24, 231.819, -61.55, -34.507, -47.27, 95.473]

**Tulos**

18.139

**Esimerkki 0.1019**

[181.909, 164.402, 127.674]

**Tulos**

157.995

**Esimerkki 0.1020**

[31.269, 35.659, 185.166, 161.063, 100.801, 160.3, -67.091, 245.872, -12.512, -42.455]

**Tulos**

79.807

**Esimerkki 0.1021**

[-97.961, 179.397, 33.679]

**Tulos**

38.372

**Esimerkki 0.1022**

[28.447, 82.523, 63.812, -93.171]

**Tulos**

20.403

**Esimerkki 0.1023**

[-18.488, 146.028, -11.256, -79.842, 106.739, 120.973, 152.344]

**Tulos**

59.5

**Esimerkki 0.1024**

[59.352, 170.19, -61.137, 201.666, -54.68, 212.091, -25.142, 54.642]

**Tulos**

69.623

**Esimerkki 0,1025**

[210.878, 55.712]

**Tulos**

133.295

**Esimerkki 0.1026**

[-82.244, 66.67, 205.157, 220.948, -43.587, 14.426, 39.861, 24.825]

**Tulos**

55.757

**Esimerkki 0.1027**

[184.502, -95.027, 151.009, -34.949, 166.021]

**Tulos**

74.311

**Esimerkki 0.1028**

[173.213, -0.905, 201.343, 44.316, 61.99, 78.612, 178.193]

**Tulos**

105.252

**Esimerkki 0.1029**

[-16.897, 83.566, 220.893, 234.562, 79.99, 152.134, 210.173, -88.351, 13.81]

**Tulos**

98.876

**Esimerkki 0.1030**

[-82.655, 69.809, 141.521, 57.91, 8.583]

**Tulos**

39.034

**Esimerkki 0.1031**

[-42.657, -25.723]

**Tulos**

-34.19

**Esimerkki 0.1032**

[-57.038, -75.986, -39.946, 101.183, 180.233]

**Tulos**

21.689

**Esimerkki 0.1033**

[-16.708, -25.495, 6.945, 148.353, 204.945, 147.252, 44.48, 229.232]

**Tulos**

92.376

**Esimerkki 0.1034**

[232.016, -96.162, 139.488, 225.387, 240.259, 135.51, 203.119]

**Tulos**

154.231

**Esimerkki 0.1035**

[43.554, 122.733, 40.669, 163.641]

**Tulos**

92.649

**Esimerkki 0.1036**

[163.797, -99.63, 69.84, -17.979, -1.254, 144.035, 234.913]

**Tulos**

70.532

**Esimerkki 0.1037**

[-93.86, -28.498, -68.673, 93.1, 223.892, 85.178, 196.645, 99.377, 204.458, 80.745]

**Tulos**

79.236

**Esimerkki 0.1038**

[150.781, 100.864, 147.925, -21.003, 6.395, 165.959]

**Tulos**

91.82

**Esimerkki 0.1039**

[46.637, -29.936, 204.502, 8.759, 79.755, 234.899, 76.56, -52.774]

**Tulos**

71.05

**Esimerkki 0.1040**

[117.4, -8.355]

**Tulos**

54.522

**Esimerkki 0.1041**

[-47.111, 60.79, -33.164, 51.467, -21.794, 4.599]

**Tulos**

2.464

**Esimerkki 0.1042**

[95.545, -62.245, 64.933, -24.849]

**Tulos**

18.346

**Esimerkki 0.1043**

[72.617, -94.419, 104.477, 184.593, 13.528, 47.333, 51.86, 38.279, 167.946, 30.116]

**Tulos**

61.633

**Esimerkki 0.1044**

[120.251, 240.944]

**Tulos**

180.598

**Esimerkki 0.1045**

[-13.097, 181.545, -77.036, 48.277, -4.675, 81.544]

**Tulos**

36.093

**Esimerkki 0.1046**

[137.16, 20.778, 231.77, 58.379, 28.577, -11.863, 0.135, 33.089]

**Tulos**

62.253

**Esimerkki 0.1047**

[13.152, 243.169, 39.93, 23.017, 150.974]

**Tulos**

94.048

**Esimerkki 0.1048**

[19.411, 98.535, 23.244, -49.953, 193.087, -64.046, 160.725, 106.174]

**Tulos**

60.897

**Esimerkki 0.1049**

[107.436, 144.094, 193.5, 158.151, -52.719, 69.977, -43.237]

**Tulos**

82.457

**Esimerkki 0,1050**

[91.118, 17.484, 235.926, 125.736, 18.112, 221.52, 55.133, 234.247, 50.777, -4.905]

**Tulos**

104.515

**Esimerkki 0.1051**

[238.124, 163.429, 28.738, -70.082, 86.352, 125.656, 20.404, 159.489, 27.774]

**Tulos**

86.654

**Esimerkki 0.1052**

[54.715, 180.963, 239.308, 175.084, 147.044, 136.262, 184.009]

**Tulos**

159.626

**Esimerkki 0.1053**

[-4.749, 102.787, -45.229, 184.111, 221.888, 22.727, 20.887, 34.094]

**Tulos**

67.065

**Esimerkki 0.1054**

[158.273, 54.431, 54.412]

**Tulos**

89.039

**Esimerkki 0.1055**

[217.838, -75.746, 203.088, 14.891, -37.984, -65.11, 228.094]

**Tulos**

69.296

**Esimerkki 0.1056**

[169.421, 88.16]

**Tulos**

128.791

**Esimerkki 0.1057**

[68.657, 143.891, 189.24, -25.665, 102.958, 222.105, 87.922, 194.815, 5.816, 236.676]

**Tulos**

122.642

**Esimerkki 0.1058**

[-44.213, 196.854, 168.799, -98.973, 7.243, 90.052, 31.508, 122.211, 3.795, 108.269]

**Tulos**

58.555

**Esimerkki 0.1059**

[-76.492, -19.56, 21.549]

**Tulos**

-24.834

**Esimerkki 0,1060**

[84.337, 8.022]

**Tulos**

46.18

**Esimerkki 0.1061**

[-67.633, 30.928, -58.604, 217.142, 103.557, -18.884]

**Tulos**

34.418

**Esimerkki 0.1062**

[-70.82, -4.384, 5.116, 236.635, 173.023]

**Tulos**

67.914

**Esimerkki 0.1063**

[-52.444, 112.084, 178.657, -54.459, -87.991, 246.326, 148.402, 123.572, -34.311, 183.622]

**Tulos**

76.346

**Esimerkki 0.1064**

[32.504, 247.607]

**Tulos**

140.056

**Esimerkki 0,1065**

[5.73, 32.035, 29.325, 224.168, 169.969]

**Tulos**

92.245

**Esimerkki 0.1066**

[66.647, 247.888, 55.318, 239.152, 111.398, 248.973, 231.76, 40.763]

**Tulos**

155.237

**Esimerkki 0.1067**

[39.516, -43.961, -54.183, 5.186, 0.495, 131.744, -97.181, 131.921, 181.318]

**Tulos**

32.762

**Esimerkki 0.1068**

[62.508, -48.659, 116.969]

**Tulos**

43.606

**Esimerkki 0.1069**

[15.799, 89.814, 140.897, 53.358, 64.439, 80.492, 177.118, -74.065]

**Tulos**

68.482

**Esimerkki 0.1070**

[-73.227, 14.029, 227.12, -95.456, 130.614]

**Tulos**

40.616

**Esimerkki 0.1071**

[96.211, -83.826, 138.223, 242.952, -36.797, -47.069]

**Tulos**

51.616

**Esimerkki 0.1072**

[54.554, 230.72, 213.903]

**Tulos**

166.392

**Esimerkki 0.1073**

[93.903, -39.959, 159.483, 32.364, 2.595]

**Tulos**

49.677

**Esimerkki 0.1074**

[-55.579, 201.522, -89.814, 92.507, 213.802, -13.352, 184.884, -47.663, -96.205, 143.467]

**Tulos**

53.357

**Esimerkki 0,1075**

[-57.81, 5.465, 115.46]

**Tulos**

21.038

**Esimerkki 0.1076**

[50.385, -43.565, 52.271, 204.418]

**Tulos**

65.877

**Esimerkki 0.1077**

[116.268, 173.27, 228.827, 52.695, 66.445, -34.051, 152.137]

**Tulos**

107.942

**Esimerkki 0.1078**

[64.98, -23.968, 107.113, -88.05, 48.489, 71.254, 103.289]

**Tulos**

40.444

**Esimerkki 0.1079**

[39.803, 18.039, 21.219]

**Tulos**

26.354

**Esimerkki 0.1080**

[148.458, -53.624, 215.138, 83.6, 73.972, -40.958, 178.166]

**Tulos**

86.393

**Esimerkki 0.1081**

[118.319, 70.462]

**Tulos**

94.39

**Esimerkki 0.1082**

[85.248, -90.231, -58.62, 89.091, 140.072, -5.453, -94.489]

**Tulos**

9.374

**Esimerkki 0.1083**

[-17.109, -54.795, -63.623, 199.981, 80.396, 45.601, 112.538, 212.129]

**Tulos**

64.39

**Esimerkki 0.1084**

[-36.901, 11.999]

**Tulos**

-12.451

**Esimerkki 0,1085**

[183.153, -39.704, 219.913, -31.843, 176.247, 92.053, 2.707, -81.491]

**Tulos**

65.129

**Esimerkki 0.1086**

[188.342, -99.815]

**Tulos**

44.264

**Esimerkki 0.1087**

[163.31, 36.308, -31.088, 13.128, 212.404, 3.921, 189.181, 213.59, 141.662]

**Tulos**

104.713

**Esimerkki 0.1088**

[-64.17, 66.619, 131.319, 170.241, 186.539, 47.378, -56.022, 28.098, 20.752]

**Tulos**

58.973

**Esimerkki 0.1089**

[-46.723, 57.973, 212.605, 94.152]

**Tulos**

79.502

**Esimerkki 0.1090**

[49.502, 32.017, 219.498, 79.544, -71.056, 232.061, 183.917, 1.581, 89.963]

**Tulos**

90.781

**Esimerkki 0.1091**

[-61.563, 49.659, 125.562, 130.542, 75.232, 197.442, 175.182, 54.736, 210.833, 65.27]

**Tulos**

102.289

**Esimerkki 0.1092**

[186.488, 34.583, 67.775, 247.022, 177.119]

**Tulos**

142.597

**Esimerkki 0.1093**

[183.144, 190.202, 160.759, 182.261, -81.003, 70.87, 202.743, -38.586, 65.87, 105.757]

**Tulos**

104.202

**Esimerkki 0.1094**

[9.739, -1.844]

**Tulos**

3.948

**Esimerkki 0,1095**

[-59.098, -22.489]

**Tulos**

-40.794

**Esimerkki 0.1096**

[6.446, -99.203, 195.258, 89.512, 145.109, 224.214]

**Tulos**

93.556

**Esimerkki 0.1097**

[238.599, 179.49, 113.878, 177.897, 117.852, 199.154]

**Tulos**

171.145

**Esimerkki 0.1098**

[120.837, 127.763]

**Tulos**

124.3

**Esimerkki 0.1099**

[69.271, -57.742, 121.719, 103.57, 217.286, 234.702, 24.344]

**Tulos**

101.879

**Esimerkki 0.1100**

[-63.664, 188.246, 114.276, 213.132, 192.142, 175.503, 34.958]

**Tulos**

122.085

**Esimerkki 0.1101**

[-58.284, -23.08, 18.302, 21.411, 142.98]

**Tulos**

20.266

**Esimerkki 0.1102**

[173.626, 223.626, -55.398, -35.546, -28.766, 44.258, 175.002]

**Tulos**

70.972

**Esimerkki 0.1103**

[198.323, 108.702, 38.704, -8.85, 57.749, 108.604, -20.56, 229.826, -85.953, 177.128]

**Tulos**

80.367

**Esimerkki 0.1104**

[140.094, 93.078, 160.723, 10.177, -85.693, -26.587, 137.572, 232.482]

**Tulos**

82.731

**Esimerkki 0.1105**

[243.786, 203.296, 241.475, 133.097, 70.183, 40.021, 23.103, 32.41]

**Tulos**

123.421

**Esimerkki 0.1106**

[48.462, -80.347, -19.649, 180.664, -24.117]

**Tulos**

21.003

**Esimerkki 0.1107**

[-24.77, 21.893, 168.521, 229.762, 133.811]

**Tulos**

105.843

**Esimerkki 0.1108**

[21.636, 69.324, 167.553, -32.203, 227.895, 114.505, 178.659, 189.341]

**Tulos**

117.089

**Esimerkki 0.1109**

[57.589, 141.696]

**Tulos**

99.642

**Esimerkki 0.1110**

[108.592, 61.559, -29.294, 98.0]

**Tulos**

59.714

**Esimerkki 0.1111**

[-13.371, 112.6, 240.359, 165.509, -33.503, 118.087, 172.774, -1.423, 20.807]

**Tulos**

86.871

**Esimerkki 0.1112**

[-46.782, 241.624, 201.41, 138.101, 167.039, 228.064, 68.487, -71.501, 249.042, 131.158]

**Tulos**

130.664

**Esimerkki 0.1113**

[140.861, 209.116, 188.856, 57.166, 215.944, 171.017, -44.315]

**Tulos**

134.092

**Esimerkki 0.1114**

[-47.309, -46.076, 191.14, -6.032, 4.858]

**Tulos**

19.316

**Esimerkki 0.1115**

[28.887, 206.41]

**Tulos**

117.648

**Esimerkki 0.1116**

[214.036, 24.752, 106.748, 206.9, 42.432, 233.646]

**Tulos**

138.086

**Esimerkki 0.1117**

[95.001, 162.252, 42.554, 167.008, -27.865]

**Tulos**

87.79

**Esimerkki 0.1118**

[247.226, -80.192, -32.113, 26.5, 247.758, 214.918, 54.096]

**Tulos**

96.885

**Esimerkki 0.1119**

[216.482, 0.935, 103.257, 204.541, 12.65, 91.719, 64.6, 70.761, 172.404]

**Tulos**

104.15

**Esimerkki 0.1120**

[210.354, 91.127, 51.505, -84.377, -68.134, 100.685, 241.744, -99.032, -56.574, -85.971]

**Tulos**

30.133

**Esimerkki 0.1121**

[113.433, 173.99]

**Tulos**

143.712

**Esimerkki 0.1122**

[-74.261, 181.495, -10.599, -58.346, -91.272, 83.835, 196.377, 32.455, 130.409, 213.129]

**Tulos**

60.322

**Esimerkki 0.1123**

[28.138, 41.76, -20.597, 60.157, 148.058, -74.272, -76.477, 38.343, 227.036, 141.991]

**Tulos**

51.414

**Esimerkki 0.1124**

[-94.067, -19.409, -52.937]

**Tulos**

-55.471

**Esimerkki 0.1125**

[10.631, 163.267, 136.722, 151.677, 121.448, 213.687, -18.511, -11.91, 232.959, 46.147]

**Tulos**

104.612

**Esimerkki 0.1126**

[-72.984, 128.607, 6.477, -21.627, 234.268, 16.279, 51.947, 104.513, 182.928]

**Tulos**

70.045

**Esimerkki 0.1127**

[124.51, 157.224, -39.067, 15.401, -46.207]

**Tulos**

42.372

**Esimerkki 0.1128**

[-7.466, 108.972, -83.563, -63.654, 194.65, 163.163, 184.572, -34.262, 83.965, -87.951]

**Tulos**

45.843

**Esimerkki 0.1129**

[40.264, -18.79, 66.705, 31.477, 19.569, 174.417, 0.31, -93.651]

**Tulos**

27.538

**Esimerkki 0.1130**

[-75.075, 22.238, -90.64, 238.928]

**Tulos**

23.863

**Esimerkki 0.1131**

[204.675, 78.42, 216.305]

**Tulos**

166.467

**Esimerkki 0.1132**

[-55.65, 181.986, -46.174]

**Tulos**

26.721

**Esimerkki 0.1133**

[-51.782, 108.911, -66.107, 149.563, 19.229, -83.242, 134.687, 226.31, 133.983]

**Tulos**

63.506

**Esimerkki 0.1134**

[145.592, -71.384, 226.119, -11.407, 79.985]

**Tulos**

73.781

**Esimerkki 0.1135**

[-1.817, 129.363, 197.437, 181.521, 249.901, 56.704, 130.786, -1.69, 21.456, 88.586]

**Tulos**

105.225

**Esimerkki 0.1136**

[243.298, -68.692]

**Tulos**

87.303

**Esimerkki 0.1137**

[156.628, -40.464, 183.559, 149.941, 113.012, 88.67]

**Tulos**

108.558

**Esimerkki 0.1138**

[56.33, -49.847, 176.505, -72.615, 133.421, 231.206, 29.368, 181.205]

**Tulos**

85.697

**Esimerkki 0.1139**

[96.483, 70.194, 134.965, 53.855, -5.477, 224.214, -36.524, 192.945, -10.051, -35.716]

**Tulos**

68.489

**Esimerkki 0.1140**

[20.002, 82.676, -51.919, 187.974, -25.189, 142.125, 202.897, 109.952]

**Tulos**

83.565

**Esimerkki 0.1141**

[-30.77, 203.781]

**Tulos**

86.506

**Esimerkki 0.1142**

[181.912, 200.298]

**Tulos**

191.105

**Esimerkki 0.1143**

[28.856, -75.471, 62.622, 212.135, -44.995, 212.972, 12.709, 3.732, 120.603]

**Tulos**

59.24

**Esimerkki 0.1144**

[139.403, 233.169, -17.693, 199.427, -99.781, 227.084]

**Tulos**

113.602

**Esimerkki 0.1145**

[-16.273, -53.495, 230.496]

**Tulos**

53.576

**Esimerkki 0.1146**

[-60.49, -23.488, 81.355, 23.925, -33.44]

**Tulos**

-2.428

**Esimerkki 0.1147**

[-51.127, -53.399, -58.094, 172.367, -29.286, 109.468, -34.858, -99.953, 9.617, -8.063]

**Tulos**

-4.333

**Esimerkki 0.1148**

[-4.028, 68.444, 150.786, -22.702, 152.894, 3.998]

**Tulos**

58.232

**Esimerkki 0.1149**

[-86.317, 142.633, 240.833]

**Tulos**

99.05

**Esimerkki 0,1150**

[19.493, 27.132, 205.625, 180.596, 233.11, 38.691]

**Tulos**

117.441

**Esimerkki 0.1151**

[207.804, 175.122, 13.63, 217.625, -98.484]

**Tulos**

103.139

**Esimerkki 0.1152**

[153.457, -71.414, -63.893, 55.214, 227.097]

**Tulos**

60.092

**Esimerkki 0.1153**

[35.368, -23.758, 205.937, 205.23, 164.6, 64.942, 24.652, -0.454]

**Tulos**

84.565

**Esimerkki 0.1154**

[160.786, 206.749, 21.159, -10.871, 51.251, 29.783]

**Tulos**

76.476

**Esimerkki 0.1155**

[-57.677, -57.773, 69.189, -28.83, 107.962, 202.143, -97.672]

**Tulos**

19.62

**Esimerkki 0.1156**

[135.193, 184.063, -0.282, -0.474, 99.543]

**Tulos**

83.609

**Esimerkki 0.1157**

[-81.316, -66.29, 129.505, 64.587, 54.295, 97.979, -90.49, -48.845, 221.481, 25.455]

**Tulos**

30.636

**Esimerkki 0.1158**

[21.343, 107.457, 169.201]

**Tulos**

99.334

**Esimerkki 0.1159**

[7.177, 87.281, 34.876, -11.309, 171.893, -11.798, 15.157]

**Tulos**

41.897

**Esimerkki 0,1160**

[44.295, 45.986, 194.229, 30.247, 119.935, 195.374, -46.994, -8.725, 119.775, 216.469]

**Tulos**

91.059

**Esimerkki 0.1161**

[-42.773, -52.553, -61.194, 21.95, 33.553, -93.478]

**Tulos**

-32.416

**Esimerkki 0.1162**

[191.799, 71.844, 65.813, 13.564, 200.624, 85.573, 104.188, 198.628, 167.331]

**Tulos**

122.152

**Esimerkki 0.1163**

[111.845, -62.659, 185.517, 113.923, 86.504, 63.083, 201.608, -77.541]

**Tulos**

77.785

**Esimerkki 0.1164**

[159.441, -67.237, 193.65, 206.133, 209.448]

**Tulos**

140.287

**Esimerkki 0,1165**

[67.255, -86.742, 213.212, 166.01, 63.505, 56.78, -11.841]

**Tulos**

66.883

**Esimerkki 0.1166**

[208.015, -87.163, -91.175, 148.043, 222.065, 171.829, -64.682, -6.178, -27.617, -86.023]

**Tulos**

38.711

**Esimerkki 0.1167**

[86.677, 22.024]

**Tulos**

54.351

**Esimerkki 0.1168**

[52.537, 57.444, -44.53, 42.677, 62.07]

**Tulos**

34.04

**Esimerkki 0.1169**

[93.58, 171.631, -57.691]

**Tulos**

69.173

**Esimerkki 0.1170**

[37.913, 67.478]

**Tulos**

52.695

**Esimerkki 0.1171**

[95.27, -77.753, -67.765, 18.886, -10.443, 183.369, 42.658, 119.415, -36.86, 158.802]

**Tulos**

42.558

**Esimerkki 0.1172**

[78.368, 216.787, -96.687, 81.728, 119.928, 49.546, 155.834, -96.513]

**Tulos**

63.624

**Esimerkki 0.1173**

[162.385, 90.784, 137.875, 141.499, 179.335, 174.937, -63.078, 225.585, -16.753, -27.884]

**Tulos**

100.469

**Esimerkki 0.1174**

[162.51, 239.661, 185.565, -91.362]

**Tulos**

124.094

**Esimerkki 0,1175**

[35.423, -37.023, 135.331, -4.56, 123.075, -97.902]

**Tulos**

25.724

**Esimerkki 0.1176**

[229.461, -89.251, 170.954]

**Tulos**

103.721

**Esimerkki 0.1177**

[-12.951, -86.706, 228.633, -86.97, 212.037, 68.463]

**Tulos**

53.751

**Esimerkki 0.1178**

[-20.289, -75.285, 177.907]

**Tulos**

27.444

**Esimerkki 0.1179**

[198.675, -42.263, 22.496]

**Tulos**

59.636

**Esimerkki 0.1180**

[-36.393, 96.684]

**Tulos**

30.146

**Esimerkki 0.1181**

[141.767, 179.216, -65.681, 220.694, 218.833, -91.372, -95.051, 175.189, 131.244]

**Tulos**

90.538

**Esimerkki 0.1182**

[41.355, 40.781, 82.879, 46.967, -3.798, 185.685, 91.083, 162.824]

**Tulos**

80.972

**Esimerkki 0.1183**

[211.892, 69.725, 110.579, 178.646, 32.595, 163.527, 229.039, -42.103, 51.631, 165.973]

**Tulos**

117.15

**Esimerkki 0.1184**

[1.065, 115.466, 47.809, 74.209, -49.274]

**Tulos**

37.855

**Esimerkki 0,1185**

[-57.3, -12.788, 157.339, 116.199, 14.006, -89.286, 144.015, -37.422, 2.157, 231.79]

**Tulos**

46.871

**Esimerkki 0.1186**

[241.096, 27.244, 128.753, 14.938, 42.798]

**Tulos**

90.966

**Esimerkki 0.1187**

[29.093, 198.56, 134.161]

**Tulos**

120.605

**Esimerkki 0.1188**

[89.829, 21.904, 63.779, -90.557, -17.003, 13.672, 218.112, 105.385, 43.244]

**Tulos**

49.818

**Esimerkki 0.1189**

[116.091, 75.192, 205.218, 85.226, 20.969, 95.001, 27.421]

**Tulos**

89.303

**Esimerkki 0.1190**

[237.58, 4.466, -35.92, 21.365, -66.51, 84.583, -3.453, 120.534, 116.163, 48.733]

**Tulos**

52.754

**Esimerkki 0.1191**

[197.314, 108.282, 77.687, -91.919, -2.084, 245.978, 150.625, 111.613, 88.383]

**Tulos**

98.431

**Esimerkki 0.1192**

[-5.039, 100.623, 99.779, -1.782, 161.216, 79.249, -4.117, 173.877, 6.431, 202.513]

**Tulos**

81.275

**Esimerkki 0.1193**

[129.503, 93.812]

**Tulos**

111.658

**Esimerkki 0.1194**

[182.441, 58.468, 209.229, 249.908, 32.346, 30.442]

**Tulos**

127.139

**Esimerkki 0,1195**

[102.449, 95.013]

**Tulos**

98.731

**Esimerkki 0.1196**

[206.49, 48.626, 200.631, 68.471, -48.903, 227.436, 158.213]

**Tulos**

122.995

**Esimerkki 0,1197**

[94.777, 118.761, 0.649]

**Tulos**

71.396

**Esimerkki 0.1198**

[145.159, -40.366, -43.71, 249.425]

**Tulos**

77.627

**Esimerkki 0.1199**

[183.807, 55.27, 77.311]

**Tulos**

105.463

**Esimerkki 0.1200**

[79.915, 123.829, -18.921, -7.76, 62.029, 66.334]

**Tulos**

50.904

**Esimerkki 0.1201**

[221.679, 16.334, 157.622, 118.18, 168.849, 157.974, 37.636, 249.085, -10.276, 70.5]

**Tulos**

118.758

**Esimerkki 0.1202**

[-7.784, -64.32]

**Tulos**

-36.052

**Esimerkki 0.1203**

[-64.31, 66.053, 186.893, 104.617, -19.939, 169.377, -87.888]

**Tulos**

50.686

**Esimerkki 0.1204**

[14.082, -7.618, -29.795, 187.226, 193.936, -52.27, 202.49, 66.698]

**Tulos**

71.844

**Esimerkki 0.1205**

[227.503, -84.373, -7.613, 62.861]

**Tulos**

49.594

**Esimerkki 0.1206**

[228.031, -85.617, 36.164]

**Tulos**

59.526

**Esimerkki 0.1207**

[146.815, 125.411, 84.472, -63.01, 79.256, -34.213, 248.004, -86.96, -39.397]

**Tulos**

51.153

**Esimerkki 0.1208**

[-25.508, 206.576, 233.062, 12.247, 129.526, 108.984, 200.861]

**Tulos**

123.678

**Esimerkki 0.1209**

[233.581, -61.083, 38.603]

**Tulos**

70.367

**Esimerkki 0.1210**

[103.343, -19.827, 218.639, 79.907, -12.194, 1.318]

**Tulos**

61.864

**Esimerkki 0.1211**

[243.402, 228.627, -58.995, -42.118, 7.87, -36.229, 163.24, 47.454, 22.998, -43.723]

**Tulos**

53.253

**Esimerkki 0.1212**

[202.886, -53.308, 202.839, -72.244, 114.795, 48.659]

**Tulos**

73.938

**Esimerkki 0.1213**

[95.815, -13.29, -53.737, 115.241, 94.236, 39.319]

**Tulos**

46.264

**Esimerkki 0.1214**

[248.541, 58.818, 55.874, 41.678, 235.605, -82.762, 80.0]

**Tulos**

91.108

**Esimerkki 0.1215**

[34.718, 46.286, 107.22, 181.771, -27.702, -66.747]

**Tulos**

45.924

**Esimerkki 0.1216**

[-6.462, -14.924, 172.464, 225.877, 55.181]

**Tulos**

86.427

**Esimerkki 0.1217**

[225.712, -27.523, -0.085, -51.494, 35.812]

**Tulos**

36.484

**Esimerkki 0.1218**

[229.556, 154.49, 249.611, -84.337, -98.549, 130.576, 207.072, 118.09, -43.198, 74.119]

**Tulos**

93.743

**Esimerkki 0.1219**

[8.068, -30.261, 190.621, 170.065, 138.565, 154.905]

**Tulos**

105.327

**Esimerkki 0.1220**

[246.898, 46.703, 39.606, 61.645, -0.088]

**Tulos**

78.953

**Esimerkki 0.1221**

[236.657, -28.247, 155.435, 40.796, -8.6]

**Tulos**

79.208

**Esimerkki 0.1222**

[-96.771, -38.864, 115.586, 152.573]

**Tulos**

33.131

**Esimerkki 0.1223**

[-45.405, 88.761]

**Tulos**

21.678

**Esimerkki 0.1224**

[-69.822, 145.439, 182.399, 209.852, 92.527, 90.773, -42.227, 94.817, 118.024, 229.224]

**Tulos**

105.101

**Esimerkki 0,1225**

[175.035, 181.17, 117.413]

**Tulos**

157.873

**Esimerkki 0.1226**

[-99.726, 122.305, 8.195, 71.552, 170.802, 16.32, 196.91, 160.34, -17.713, -96.508]

**Tulos**

53.248

**Esimerkki 0.1227**

[243.593, 73.842, 233.891, 207.996, 9.099, -15.81, 236.911, 152.289, -3.803]

**Tulos**

126.445

**Esimerkki 0.1228**

[246.965, -29.056]

**Tulos**

108.954

**Esimerkki 0.1229**

[-63.492, 74.563]

**Tulos**

5.536

**Esimerkki 0.1230**

[77.448, 114.649, -58.938, -21.766, -27.675, 91.595]

**Tulos**

29.219

**Esimerkki 0.1231**

[163.905, 170.242, 94.071, 50.277, 218.562, -99.48, 180.404, -95.86, -43.816]

**Tulos**

70.923

**Esimerkki 0.1232**

[65.763, 230.604, -36.342, 248.822, 108.597, 179.528]

**Tulos**

132.829

**Esimerkki 0.1233**

[138.373, 149.734]

**Tulos**

144.054

**Esimerkki 0.1234**

[83.282, 124.677, 44.957, 35.213]

**Tulos**

72.032

**Esimerkki 0.1235**

[-51.642, 238.013, -43.856, 22.507, -42.668, 58.618, 182.244, 35.27, -73.154, -50.349]

**Tulos**

27.498

**Esimerkki 0.1236**

[-81.496, -99.412, 236.722, 231.577, 37.315, 132.523, 57.5, 220.899]

**Tulos**

91.953

**Esimerkki 0.1237**

[195.822, -74.599, -35.447]

**Tulos**

28.592

**Esimerkki 0.1238**

[115.699, -97.203]

**Tulos**

9.248

**Esimerkki 0.1239**

[32.459, -70.112, -49.429, 123.721, 95.856, 153.681, -38.965, 36.96, -1.414, 201.188]

**Tulos**

48.395

**Esimerkki 0.1240**

[144.496, 183.789, -66.045, 100.71, -26.271, 56.979, 224.134]

**Tulos**

88.256

**Esimerkki 0.1241**

[-18.001, 51.172, -66.333, -79.852, 93.818, 230.012, 55.556, -63.057, 124.868]

**Tulos**

36.465

**Esimerkki 0.1242**

[154.336, 123.582, 136.273, 233.992, -44.56]

**Tulos**

120.725

**Esimerkki 0.1243**

[214.749, -12.53, -14.167, -64.837, -7.259, -98.317, 242.557]

**Tulos**

37.171

**Esimerkki 0.1244**

[138.52, -19.393, -51.637, 20.032, 246.008, 181.288]

**Tulos**

85.803

**Esimerkki 0,1245**

[57.478, 212.225, -90.816, -10.092, 238.514, 60.36, 59.627]

**Tulos**

75.328

**Esimerkki 0.1246**

[183.31, 129.131, 84.609, -82.146, 216.028, -95.014, 105.812, 137.712, -78.8]

**Tulos**

66.738

**Esimerkki 0,1247**

[224.72, 31.99, -40.846, 78.166]

**Tulos**

73.508

**Esimerkki 0.1248**

[8.411, -30.911, 93.789, 108.922]

**Tulos**

45.053

**Esimerkki 0.1249**

[201.067, 44.566, 240.211, 104.013, 196.229]

**Tulos**

157.217

**Esimerkki 0,1250**

[-52.885, 16.106, 54.694, -12.459, 118.135, 68.077]

**Tulos**

31.945

**Esimerkki 0.1251**

[152.05, 174.962, 23.572, 72.845, -33.477, -76.49, -91.234, 45.782]

**Tulos**

33.501

**Esimerkki 0.1252**

[48.685, -30.272, 131.88]

**Tulos**

50.098

**Esimerkki 0.1253**

[-78.675, -82.203, 209.779, -25.743, 193.886, 113.647, -35.136, 22.275]

**Tulos**

39.729

**Esimerkki 0.1254**

[177.435, 227.721, 3.771, 62.398, -50.349, 215.672, 97.194]

**Tulos**

104.835

**Esimerkki 0,1255**

[-19.096, 48.601, 142.379, -26.639, 92.733]

**Tulos**

47.596

**Esimerkki 0.1256**

[8.845, -28.978, -50.591, -2.116, 237.651, 247.451]

**Tulos**

68.71

**Esimerkki 0.1257**

[54.908, 25.798]

**Tulos**

40.353

**Esimerkki 0.1258**

[-15.284, -38.374, 177.778]

**Tulos**

41.373

**Esimerkki 0.1259**

[142.585, 60.509, 210.118, 174.148, 236.339, 158.633, 50.016]

**Tulos**

147.478

**Esimerkki 0.1260**

[217.356, 189.716, 6.915, 191.059, -64.239, 235.664]

**Tulos**

129.412

**Esimerkki 0.1261**

[186.429, -91.975, -40.959]

**Tulos**

17.832

**Esimerkki 0.1262**

[-55.373, 118.786]

**Tulos**

31.707

**Esimerkki 0.1263**

[109.276, 75.234, 144.018, -3.764]

**Tulos**

81.191

**Esimerkki 0.1264**

[-42.21, 157.807, -81.877, 210.503, 187.688, 67.427]

**Tulos**

83.223

**Esimerkki 0,1265**

[182.88, 149.033, -93.8, -36.877, -48.041, -65.251, 78.856, 7.855, 44.956, 147.141]

**Tulos**

36.675

**Esimerkki 0.1266**

[233.84, -38.337, 10.341, 195.901, 68.586, 214.429, 213.823, 88.799]

**Tulos**

123.423

**Esimerkki 0,1267**

[1.965, 6.414, 41.32, 83.709, 20.44, 152.32, 15.974, 240.85, 69.194]

**Tulos**

70.243

**Esimerkki 0.1268**

[-9.354, 98.9, 60.569, -78.676, 31.088]

**Tulos**

20.505

**Esimerkki 0.1269**

[89.226, 241.396, 7.011, 114.867, 113.075, 103.559, 83.142, 188.743, -27.33, 180.773]

**Tulos**

109.446

**Esimerkki 0.1270**

[-50.687, -80.68]

**Tulos**

-65.684

**Esimerkki 0.1271**

[-17.45, -75.073, 169.663, 149.61]

**Tulos**

56.688

**Esimerkki 0.1272**

[85.062, 151.649, 55.188, -74.823, 10.202, -88.815, -75.278, 59.762, 211.788]

**Tulos**

37.193

**Esimerkki 0.1273**

[-92.768, 198.533, 38.737, -64.238, 136.357, 10.586]

**Tulos**

37.868

**Esimerkki 0.1274**

[220.555, 91.967, 144.003, -86.6, 170.326]

**Tulos**

108.05

**Esimerkki 0,1275**

[-14.826, 211.373]

**Tulos**

98.274

**Esimerkki 0.1276**

[231.787, 146.369, -89.965, 171.172, -29.588, 87.013, -93.508]

**Tulos**

60.469

**Esimerkki 0.1277**

[-37.636, 108.306, 31.669, 51.574, 93.897, 137.828, 125.5, -90.822]

**Tulos**

52.54

**Esimerkki 0.1278**

[1.001, -99.636, 227.229, 198.196, 116.771]

**Tulos**

88.712

**Esimerkki 0.1279**

[-9.088, 104.857]

**Tulos**

47.884

**Esimerkki 0.1280**

[173.344, 28.318, -84.054]

**Tulos**

39.203

**Esimerkki 0.1281**

[163.589, 195.194, -62.624, 219.387, 213.38, 80.703]

**Tulos**

134.938

**Esimerkki 0.1282**

[-73.074, 87.743, 221.875, 126.604, 31.513, 196.863]

**Tulos**

98.587

**Esimerkki 0.1283**

[76.853, -49.384, 43.38, -70.157, 153.674]

**Tulos**

30.873

**Esimerkki 0.1284**

[-81.067, -39.658, 89.761]

**Tulos**

-10.321

**Esimerkki 0.1285**

[-96.318, -51.866, 70.603, 58.071, -7.562, -90.433, -90.666, -67.568]

**Tulos**

-34.467

**Esimerkki 0.1286**

[46.136, 37.75, 217.657, -57.671, 202.793, 124.039]

**Tulos**

95.117

**Esimerkki 0.1287**

[19.029, 119.373]

**Tulos**

69.201

**Esimerkki 0,1288**

[160.567, 148.731]

**Tulos**

154.649

**Esimerkki 0.1289**

[178.694, -18.914, 30.093, -42.535, 10.965, 20.697]

**Tulos**

29.833

**Esimerkki 0,1290**

[164.878, 154.131, 147.391, 81.562, -39.718]

**Tulos**

101.649

**Esimerkki 0.1291**

[174.36, 9.72, 249.176, 114.153, 222.103, -12.531, -92.444, 246.564]

**Tulos**

113.888

**Esimerkki 0.1292**

[0.169, -70.739, 146.309, -41.973]

**Tulos**

8.441

**Esimerkki 0.1293**

[0.323, 11.306, 87.604, -83.158, 11.366, 49.123, 23.318, 53.095]

**Tulos**

19.122

**Esimerkki 0.1294**

[237.481, 130.133, 119.461, 14.542, 156.076, 14.023, -99.349, 71.227]

**Tulos**

80.449

**Esimerkki 0,1295**

[-14.919, 55.56, 143.852, 49.852, 149.067, -38.197]

**Tulos**

57.536

**Esimerkki 0.1296**

[195.82, -64.675, 93.343, 134.74, 26.245]

**Tulos**

77.095

**Esimerkki 0,1297**

[-66.907, 142.918, 119.907, -26.032, 133.459, 116.226, 228.722, 200.768, 89.473, 23.599]

**Tulos**

96.213

**Esimerkki 0.1298**

[153.491, -55.827, 118.696, 73.152, 102.671, 230.126, 3.802, 125.444, 158.523]

**Tulos**

101.12

**Esimerkki 0.1299**

[11.287, 165.215, 173.077, 124.129]

**Tulos**

118.427

**Esimerkki 0.1300**

[-3.31, -26.651, -39.562, 212.398]

**Tulos**

35.719

**Esimerkki 0.1301**

[184.146, -36.382, -26.578]

**Tulos**

40.395

**Esimerkki 0.1302**

[-62.806, -85.853, -62.331, 212.246, 130.894, 120.109]

**Tulos**

42.043

**Esimerkki 0.1303**

[38.24, 196.576, -84.173, -45.001, 1.607, 170.177, 234.811, -60.183, -91.513]

**Tulos**

40.06

**Esimerkki 0.1304**

[132.457, 207.174, -57.869, 200.819, 179.419, 41.195]

**Tulos**

117.199

**Esimerkki 0.1305**

[39.443, 144.071, 28.879, 232.097, -87.608, -97.906]

**Tulos**

43.163

**Esimerkki 0.1306**

[-36.981, 147.892]

**Tulos**

55.456

**Esimerkki 0.1307**

[-87.558, -42.505, 53.691]

**Tulos**

-25.457

**Esimerkki 0.1308**

[-59.623, -26.03]

**Tulos**

-42.826

**Esimerkki 0.1309**

[6.75, 159.241, 2.768, 177.522, -26.097, -91.807, 84.681, 203.487, 149.677]

**Tulos**

74.025

**Esimerkki 0.1310**

[64.948, -79.346, 177.272, 188.352, -33.385, -73.891]

**Tulos**

40.658

**Esimerkki 0.1311**

[83.926, 50.098, -46.636, -72.232, 162.915, 97.539, -41.919, 112.24, 172.042]

**Tulos**

57.553

**Esimerkki 0.1312**

[-74.074, -34.113]

**Tulos**

-54.094

**Esimerkki 0.1313**

[75.315, -9.711, -65.963]

**Tulos**

-0.12

**Esimerkki 0.1314**

[-99.308, 73.801, 212.248, 101.199, 85.965, -30.919, -39.938, 173.864]

**Tulos**

59.614

**Esimerkki 0.1315**

[55.788, -77.663, 41.628, -89.2]

**Tulos**

-17.362

**Esimerkki 0.1316**

[150.252, 230.13, 193.394]

**Tulos**

191.259

**Esimerkki 0.1317**

[161.751, 233.779, -33.533]

**Tulos**

120.666

**Esimerkki 0.1318**

[109.823, 133.524]

**Tulos**

121.673

**Esimerkki 0.1319**

[68.017, -84.821, -80.681, 153.794, 108.464, 0.734, -60.638, 141.255]

**Tulos**

30.766

**Esimerkki 0.1320**

[-65.719, -51.25, 80.704, -20.724, 93.024, -58.518, 99.942, -70.64, 33.337, 149.377]

**Tulos**

18.953

**Esimerkki 0,1321**

[36.01, 170.933, 211.245]

**Tulos**

139.396

**Esimerkki 0.1322**

[34.035, -52.533, 154.197, 53.232, 156.407]

**Tulos**

69.068

**Esimerkki 0.1323**

[131.352, -5.501, -16.508, 113.088, 182.755, 69.36, 51.637, 147.465, -15.197, 92.215]

**Tulos**

75.067

**Esimerkki 0.1324**

[91.408, 178.508, 77.081, 13.419, 185.372, 158.828]

**Tulos**

117.436

**Esimerkki 0,1325**

[154.685, -24.045, 234.881, 122.942, -4.421, 45.117, 110.686, 53.464]

**Tulos**

86.664

**Esimerkki 0,1326**

[247.121, 197.486]

**Tulos**

222.304

**Esimerkki 0.1327**

[-30.974, -44.667, 78.4, 122.238, 104.235]

**Tulos**

45.846

**Esimerkki 0.1328**

[-16.468, -91.848, 81.92, -63.148, 64.163, -63.179, 155.614, -18.748, -99.73]

**Tulos**

-5.714

**Esimerkki 0.1329**

[144.883, 212.012, 128.352]

**Tulos**

161.749

**Esimerkki 0.1330**

[113.0, 133.847, 203.425, 39.379]

**Tulos**

122.413

**Esimerkki 0.1331**

[187.904, -64.727, 114.51, 164.022, 174.232]

**Tulos**

115.188

**Esimerkki 0.1332**

[224.388, -80.303, 193.362, 151.716, 53.397, 189.416, 38.043]

**Tulos**

110.003

**Esimerkki 0.1333**

[79.79, 14.945, 108.268, 146.943, 5.318, 173.729, 183.337, 14.842]

**Tulos**

90.896

**Esimerkki 0.1334**

[219.667, -51.097, -34.902, -21.445]

**Tulos**

28.056

**Esimerkki 0,1335**

[224.567, -42.213, 232.017]

**Tulos**

138.124

**Esimerkki 0.1336**

[-78.93, 108.423, 130.267, 151.071, 26.576, -72.559, 72.839, 161.747, 216.061]

**Tulos**

79.499

**Esimerkki 0.1337**

[49.893, 165.772, 226.448]

**Tulos**

147.371

**Esimerkki 0.1338**

[27.138, -56.026, 133.567, 226.428, 56.348, 138.707, 39.885, 187.52]

**Tulos**

94.196

**Esimerkki 0.1339**

[97.199, 210.087]

**Tulos**

153.643

**Esimerkki 0,1340**

[116.94, -5.557, -52.426, -8.175, 164.035, 107.554, 42.564]

**Tulos**

52.134

**Esimerkki 0.1341**

[228.646, -26.004, 175.415, 53.329, 5.579, 89.641, 19.887, 103.431, -78.426]

**Tulos**

63.5

**Esimerkki 0.1342**

[127.803, 159.101, 233.703, -8.136]

**Tulos**

128.118

**Esimerkki 0.1343**

[183.506, 81.045, 92.505, 157.792, 25.641]

**Tulos**

108.098

**Esimerkki 0.1344**

[114.572, 167.95, -93.446, 44.119, -53.282, -64.43, -90.8]

**Tulos**

3.526

**Esimerkki 0,1345**

[26.08, 56.924, 53.698, -11.336, -23.002, 61.614, 166.067, 117.058, 71.9, -0.328]

**Tulos**

51.867

**Esimerkki 0.1346**

[-66.648, 71.798, -71.769, -6.856]

**Tulos**

-18.369

**Esimerkki 0.1347**

[16.214, 152.298, -37.463, 42.061, 72.054, 97.727]

**Tulos**

57.149

**Esimerkki 0.1348**

[239.843, 143.609]

**Tulos**

191.726

**Esimerkki 0.1349**

[65.477, 203.95, 239.904, 37.795, 138.265, 159.3, -50.357]

**Tulos**

113.476

**Esimerkki 0,1350**

[73.888, 3.603, -39.616, 177.936, 122.352, 224.579, 247.705]

**Tulos**

115.778

**Esimerkki 0.1351**

[-59.862, 176.849, 54.308, 107.664, -42.815, -48.371, 124.723, 238.97]

**Tulos**

68.933

**Esimerkki 0.1352**

[140.596, 20.144, 149.242, 92.447, -92.97, 137.685, 118.721, 153.251, 109.455]

**Tulos**

92.063

**Esimerkki 0.1353**

[-49.56, -67.173, 81.09, 160.544, 180.924]

**Tulos**

61.165

**Esimerkki 0.1354**

[35.56, 139.074, 171.611, -7.976, 91.496, 75.367, 117.174, -76.129]

**Tulos**

68.272

**Esimerkki 0,1355**

[70.748, 145.924, 213.55, -15.446, 219.555, 89.961]

**Tulos**

120.715

**Esimerkki 0.1356**

[218.015, -78.867]

**Tulos**

69.574

**Esimerkki 0.1357**

[129.096, 67.707, 194.506, 33.811, 189.146, 119.157]

**Tulos**

122.237

**Esimerkki 0.1358**

[24.701, -82.473, -81.179, 40.441]

**Tulos**

-24.627

**Esimerkki 0.1359**

[-52.587, -70.764, -44.949, 114.334, -32.991]

**Tulos**

-17.391

**Esimerkki 0,1360**

[0.709, -54.663, 37.858]

**Tulos**

-5.365

**Esimerkki 0.1361**

[237.501, 67.08, 13.857]

**Tulos**

106.146

**Esimerkki 0.1362**

[-9.014, 248.261, 225.233]

**Tulos**

154.827

**Esimerkki 0.1363**

[241.761, 131.957, -49.651, 233.982, 66.553, 87.147, -40.11]

**Tulos**

95.948

**Esimerkki 0.1364**

[188.519, -0.783, 42.124, 114.212, 1.817]

**Tulos**

69.178

**Esimerkki 0,1365**

[96.578, 41.49, -50.833, 101.795, 86.169, 124.998, 117.269, 123.147, 164.633, -67.181]

**Tulos**

73.806

**Esimerkki 0.1366**

[172.269, -53.561]

**Tulos**

59.354

**Esimerkki 0.1367**

[131.524, 214.074, -60.705]

**Tulos**

94.964

**Esimerkki 0.1368**

[69.613, 12.342, -95.009, 93.689, -35.955, -2.905, 198.623]

**Tulos**

34.343

**Esimerkki 0.1369**

[155.268, -63.839, 167.983, 65.787, -33.84]

**Tulos**

58.272

**Esimerkki 0,1370**

[60.054, 225.465]

**Tulos**

142.76

**Esimerkki 0.1371**

[-95.861, -2.627, 72.623, 95.799, 127.484, 244.326, -18.905, -32.979]

**Tulos**

48.732

**Esimerkki 0.1372**

[222.641, 79.462, -62.481, 74.152, 155.326]

**Tulos**

93.82

**Esimerkki 0.1373**

[-2.841, 221.139, -55.141, 18.688, -60.03]

**Tulos**

24.363

**Esimerkki 0.1374**

[1.334, 139.911, -71.387, 170.609]

**Tulos**

60.117

**Esimerkki 0,1375**

[197.981, 163.417, -32.621, 123.377, 215.221, 84.678]

**Tulos**

125.342

**Esimerkki 0.1376**

[114.555, 70.394]

**Tulos**

92.474

**Esimerkki 0,1377**

[-17.176, 107.819, 110.164]

**Tulos**

66.936

**Esimerkki 0.1378**

[227.906, 51.753, 136.102, 34.354, 19.172, -14.273, 181.635, 239.243, 126.67]

**Tulos**

111.396

**Esimerkki 0.1379**

[134.631, 27.106]

**Tulos**

80.868

**Esimerkki 0.1380**

[93.018, 193.55, -63.786, -20.865, -24.826, 168.569, -36.063, 202.202, 111.759, 33.249]

**Tulos**

65.681

**Esimerkki 0.1381**

[138.598, 55.677, 18.483, 226.852, 75.885, -65.561, 8.468, 203.355]

**Tulos**

82.72

**Esimerkki 0.1382**

[238.695, -32.75, -11.325, -41.57, -47.99, 164.697, 218.758, 86.814, 176.681]

**Tulos**

83.557

**Esimerkki 0.1383**

[-71.113, -89.349, 160.103, -23.041, 36.969, 179.61, 69.819, 55.626]

**Tulos**

39.828

**Esimerkki 0.1384**

[153.594, 111.162, -59.977, 227.411, 37.537]

**Tulos**

93.945

**Esimerkki 0,1385**

[-85.196, 17.729, 68.907, 217.255, -13.793]

**Tulos**

40.98

**Esimerkki 0.1386**

[-76.82, 7.764, -98.515, -90.606, 232.886, 213.332, 78.674, 235.391, 41.983]

**Tulos**

60.454

**Esimerkki 0.1387**

[104.54, 70.777, 51.879, 161.253, 58.991, 177.564, -3.982, 115.444]

**Tulos**

92.058

**Esimerkki 0,1388**

[53.391, 118.782, 102.742]

**Tulos**

91.638

**Esimerkki 0.1389**

[88.77, 109.102, -86.446, 207.301, 160.91, -12.956]

**Tulos**

77.78

**Esimerkki 0,1390**

[199.418, -21.567, 190.596, 58.811, 13.714, 138.895, 118.257, -12.757, -98.956]

**Tulos**

65.157

**Esimerkki 0.1391**

[40.313, 111.781, -4.654, 207.707, 149.175, -41.041, 206.948, 0.05, 238.678, 194.837]

**Tulos**

110.379

**Esimerkki 0.1392**

[-3.307, 140.293, 3.486, 62.844, 64.034, 157.329, 155.205, 68.587, 34.966]

**Tulos**

75.937

**Esimerkki 0,1393**

[41.154, 104.921, -57.969, -36.61, 249.807, 42.662, 142.148, 14.486, -48.767, -93.829]

**Tulos**

35.8

**Esimerkki 0.1394**

[169.83, -50.376, -2.571, 216.038, 98.437]

**Tulos**

86.272

**Esimerkki 0,1395**

[17.657, 245.186, -98.142, 222.762, 132.598]

**Tulos**

104.012

**Esimerkki 0,1396**

[9.586, 105.771, -8.414, 192.046]

**Tulos**

74.747

**Esimerkki 0,1397**

[21.331, -96.267, 232.248, -46.94, 11.743, 73.872, 228.407, 129.412, 32.276]

**Tulos**

65.12

**Esimerkki 0.1398**

[126.283, -17.494, 32.136, -74.626, 217.379]

**Tulos**

56.736

**Esimerkki 0.1399**

[-29.727, 150.587, -28.344, 181.096, 0.275, -91.658, 169.609, -21.106, 153.48]

**Tulos**

53.801

**Esimerkki 0.1400**

[168.957, 217.72, 62.286, 53.797, -12.139, 161.401]

**Tulos**

108.67

**Esimerkki 0.1401**

[-34.19, -59.655, 47.893, 224.506, -2.053]

**Tulos**

35.3

**Esimerkki 0.1402**

[17.344, 33.585, 60.29, -26.858, 48.603, 104.119, 95.862, 156.352]

**Tulos**

61.162

**Esimerkki 0.1403**

[-90.555, 201.63, 149.764, 232.719, -61.716, 28.346]

**Tulos**

76.698

**Esimerkki 0.1404**

[33.912, -39.564, 217.066]

**Tulos**

70.471

**Esimerkki 0,1405**

[157.855, 230.57, 42.373, -61.968]

**Tulos**

92.207

**Esimerkki 0.1406**

[151.208, 165.432, 158.885, -88.153, 7.223, -68.982, 240.131]

**Tulos**

80.821

**Esimerkki 0.1407**

[147.312, 197.86, 117.631, 184.156, 124.847]

**Tulos**

154.361

**Esimerkki 0.1408**

[36.003, 222.123, 130.848, 196.514, -41.161]

**Tulos**

108.865

**Esimerkki 0.1409**

[225.51, 156.37, -14.789, 241.641, 54.02, -45.751]

**Tulos**

102.834

**Esimerkki 0.1410**

[162.141, 123.398, 133.398, -10.879, 174.831, 48.603]

**Tulos**

105.249

**Esimerkki 0.1411**

[-9.457, 74.107, 19.464, -56.272]

**Tulos**

6.961

**Esimerkki 0.1412**

[178.561, 217.315, 224.614, 113.35, 98.987]

**Tulos**

166.565

**Esimerkki 0.1413**

[37.529, -27.613, -39.996, -21.265, -87.647]

**Tulos**

-27.798

**Esimerkki 0.1414**

[30.533, 204.382]

**Tulos**

117.458

**Esimerkki 0.1415**

[219.879, -65.298, -87.086, 229.401, 94.505, 97.81, -89.529, -48.863, 2.922]

**Tulos**

39.305

**Esimerkki 0.1416**

[-91.014, 66.004, -4.593, -92.968]

**Tulos**

-30.643

**Esimerkki 0.1417**

[-1.271, 77.439, -92.943, 48.28, 66.002]

**Tulos**

19.501

**Esimerkki 0.1418**

[84.074, 36.545, 74.236, -44.079, 183.305, 141.542, -77.383, 53.848, -18.09, 146.092]

**Tulos**

58.009

**Esimerkki 0.1419**

[14.714, 193.877, 59.698, 207.719, 48.002, 115.721, 240.783, -11.255, 184.37]

**Tulos**

117.07

**Esimerkki 0.1420**

[70.746, 33.658]

**Tulos**

52.202

**Esimerkki 0.1421**

[89.459, -13.709, -45.897, 153.076, 69.483, 21.646]

**Tulos**

45.676

**Esimerkki 0.1422**

[103.028, 231.486, 24.809]

**Tulos**

119.774

**Esimerkki 0.1423**

[231.295, 179.622]

**Tulos**

205.459

**Esimerkki 0.1424**

[-66.461, -23.723, -86.436, -25.52, 17.227, -16.517, 120.023, 197.06, 111.925]

**Tulos**

25.286

**Esimerkki 0,1425**

[96.921, 188.823, 195.627, -32.429, 144.606, -13.635, -44.458, 48.391, -19.867, 162.804]

**Tulos**

72.678

**Esimerkki 0.1426**

[-92.0, 108.814, 164.207, 94.26, 33.74]

**Tulos**

61.804

**Esimerkki 0.1427**

[8.854, 74.189, 92.833, -33.086, -91.707, 67.05, 80.273, 24.698, 20.273, 33.304]

**Tulos**

27.668

**Esimerkki 0.1428**

[130.88, 195.374]

**Tulos**

163.127

**Esimerkki 0.1429**

[134.479, 106.642, 94.798, 145.971, -88.732, 185.359, 49.87]

**Tulos**

89.77

**Esimerkki 0.1430**

[221.436, 75.1, 120.569, 152.832, 233.433, 202.052, 66.384]

**Tulos**

153.115

**Esimerkki 0.1431**

[-3.738, -62.5, 38.225]

**Tulos**

-9.338

**Esimerkki 0.1432**

[130.346, -68.43, 203.192, 18.149]

**Tulos**

70.814

**Esimerkki 0.1433**

[66.666, -70.196, -39.152]

**Tulos**

-14.227

**Esimerkki 0.1434**

[186.393, -36.585, 69.153, 218.193, 218.362, 128.006, -68.039, 46.102, 131.093]

**Tulos**

99.186

**Esimerkki 0.1435**

[13.103, 36.92, 3.604, -39.832]

**Tulos**

3.449

**Esimerkki 0.1436**

[-48.578, 36.466, 26.844, 193.219, 146.103, 186.025, -10.378]

**Tulos**

75.672

**Esimerkki 0.1437**

[85.886, 195.421, 139.334, -76.204]

**Tulos**

86.109

**Esimerkki 0.1438**

[227.507, 66.655, 118.205, -50.044]

**Tulos**

90.581

**Esimerkki 0.1439**

[235.617, -44.451, 135.385, -16.842, -97.785]

**Tulos**

42.385

**Esimerkki 0.1440**

[27.973, -54.446, -1.729, 137.326, -89.955, -57.231, 64.792, 127.163, 35.975, 227.486]

**Tulos**

41.735

**Esimerkki 0.1441**

[-15.288, -71.966]

**Tulos**

-43.627

**Esimerkki 0.1442**

[208.593, -87.645, 141.043]

**Tulos**

87.33

**Esimerkki 0.1443**

[78.832, 234.037, 38.241, 240.8, 69.32, -84.962, -27.847, 93.799]

**Tulos**

80.278

**Esimerkki 0.1444**

[44.659, -7.967, 27.321, 68.288, 124.785, -26.213, 27.928, -19.832, 176.029]

**Tulos**

46.111

**Esimerkki 0.1445**

[40.97, 134.787]

**Tulos**

87.878

**Esimerkki 0.1446**

[83.108, 66.439, 237.722, 178.982, 125.938, 40.008, 32.364]

**Tulos**

109.223

**Esimerkki 0.1447**

[4.787, 75.65, 238.772, 146.209, -37.483]

**Tulos**

85.587

**Esimerkki 0.1448**

[-55.955, 95.939, 147.531, 78.429, -66.582, -73.494, -88.544]

**Tulos**

5.332

**Esimerkki 0.1449**

[204.744, -21.277, 226.006, -67.278, 124.572, -72.345]

**Tulos**

65.737

**Esimerkki 0,1450**

[130.739, 36.207, 93.723, -45.692, -50.344, 174.545, 237.981, -53.065]

**Tulos**

65.512

**Esimerkki 0.1451**

[205.064, -88.28, 150.536, 239.481, 194.547, 129.264, 39.825, 208.173, -20.063, -60.007]

**Tulos**

99.854

**Esimerkki 0.1452**

[-50.674, 169.169, 25.308, -71.296, 240.084]

**Tulos**

62.518

**Esimerkki 0.1453**

[-82.341, -45.7, 42.535, 89.783, 121.14]

**Tulos**

25.083

**Esimerkki 0.1454**

[-94.475, 150.208, -46.949, 70.49, -4.341, -82.564, 144.79, 114.873, 2.76, 225.447]

**Tulos**

48.024

**Esimerkki 0.1455**

[39.517, 203.139, 228.414, -6.216, -68.859, 183.378, 30.169]

**Tulos**

87.077

**Esimerkki 0.1456**

[212.748, 1.108, -28.847, 82.706, 87.593, 188.959, -46.088]

**Tulos**

71.168

**Esimerkki 0.1457**

[80.436, -37.624, 111.954, 60.145, -36.117]

**Tulos**

35.759

**Esimerkki 0.1458**

[198.488, -82.309, 221.856, -62.11, -56.522, 179.093, 187.819, 146.271, 38.546]

**Tulos**

85.681

**Esimerkki 0.1459**

[-33.534, 58.157, 70.753, 71.611, 109.161, 24.123, 52.98, -81.441]

**Tulos**

33.976

**Esimerkki 0,1460**

[132.047, -2.027, 97.041, -49.199, 29.646, 3.384, 104.121, 237.857, 5.555]

**Tulos**

62.047

**Esimerkki 0.1461**

[79.04, 110.342, 208.846, 132.702, 48.832, -81.929]

**Tulos**

82.972

**Esimerkki 0.1462**

[-17.038, 13.314, 15.266, 25.245, 221.697, 66.588, 224.63, 72.309, 232.85]

**Tulos**

94.985

**Esimerkki 0.1463**

[85.433, 9.094, 98.364, 175.424, 105.707, 80.646, 218.004, 65.0, 215.29, 139.78]

**Tulos**

119.274

**Esimerkki 0.1464**

[239.972, -40.003, 90.667, 218.19, 160.467, -38.168, 219.806]

**Tulos**

121.562

**Esimerkki 0,1465**

[127.151, 134.989]

**Tulos**

131.07

**Esimerkki 0.1466**

[146.286, -90.849, 216.772, 115.089, 6.542, -7.268, -45.921, 87.876]

**Tulos**

53.566

**Esimerkki 0.1467**

[246.363, 47.04, -80.805, 163.312, 236.199, -88.808, 119.739, 106.244, -19.212, 94.629]

**Tulos**

82.47

**Esimerkki 0.1468**

[130.781, 61.441, 49.933, 54.647, -3.04, 153.316, 30.724, 73.056, 130.841, 141.979]

**Tulos**

82.368

**Esimerkki 0.1469**

[-32.67, -24.717, 138.84, 206.052, -85.698, 176.068]

**Tulos**

62.979

**Esimerkki 0.1470**

[72.745, 199.158, 161.157, 152.862]

**Tulos**

146.48

**Esimerkki 0.1471**

[10.986, -94.96, 243.109, 12.322, -15.849, 166.927, 108.517, 79.409, 103.702, 209.938]

**Tulos**

82.41

**Esimerkki 0.1472**

[-94.332, 235.196, 71.433, -91.591, 197.609, 16.597, 87.414, 153.654, 227.278, -74.116]

**Tulos**

72.914

**Esimerkki 0.1473**

[1.99, 89.44, 100.116, 86.918, 105.123]

**Tulos**

76.717

**Esimerkki 0.1474**

[-33.421, 234.099, -68.856, 228.909, -91.024, -21.115, -35.901, -59.716, 94.192, -68.154]

**Tulos**

17.901

**Esimerkki 0,1475**

[242.036, 124.851, 145.536, 239.366, 123.19, -60.718, 219.195, 64.154]

**Tulos**

137.201

**Esimerkki 0.1476**

[-44.227, 206.219, -73.926]

**Tulos**

29.355

**Esimerkki 0.1477**

[204.697, 25.098, 50.409]

**Tulos**

93.401

**Esimerkki 0.1478**

[-58.021, -30.39, 218.695, -22.319, -93.932]

**Tulos**

2.807

**Esimerkki 0.1479**

[224.05, 90.637, 205.494, -31.962, -7.077]

**Tulos**

96.228

**Esimerkki 0.1480**

[-6.353, 218.213, 125.164, -95.828]

**Tulos**

60.299

**Esimerkki 0.1481**

[-73.875, -22.17]

**Tulos**

-48.022

**Esimerkki 0.1482**

[133.885, 153.911, 226.516]

**Tulos**

171.437

**Esimerkki 0.1483**

[187.551, 190.758, -75.811, 186.661, -29.276, -38.657, 29.979]

**Tulos**

64.458

**Esimerkki 0.1484**

[69.184, 18.714]

**Tulos**

43.949

**Esimerkki 0,1485**

[-74.476, -25.467, 103.474, 168.431]

**Tulos**

42.991

**Esimerkki 0.1486**

[-75.438, -35.122, 150.678, 152.512, 223.812, 135.057, -84.327, 16.438]

**Tulos**

60.451

**Esimerkki 0.1487**

[60.02, -66.628, -95.571, 114.26, 109.577, 141.08, 154.303, 228.454, 46.856, 7.365]

**Tulos**

69.972

**Esimerkki 0.1488**

[-81.958, 242.122, 193.183, -23.414, -5.145, -50.155, -88.102, 71.984, -62.468, 151.114]

**Tulos**

34.716

**Esimerkki 0.1489**

[116.014, 21.648]

**Tulos**

68.831

**Esimerkki 0.1490**

[102.293, 241.3, 221.399, 59.358]

**Tulos**

156.087

**Esimerkki 0.1491**

[97.857, -47.091, 77.519, 57.494, 119.734]

**Tulos**

61.103

**Esimerkki 0.1492**

[210.345, 91.115]

**Tulos**

150.73

**Esimerkki 0.1493**

[19.219, -79.042, -90.338, 24.587, 35.328]

**Tulos**

-18.049

**Esimerkki 0.1494**

[98.967, 94.497, 2.134, 78.053, -78.517, 126.749, 87.549, 45.047, 51.818]

**Tulos**

56.255

**Esimerkki 0,1495**

[228.567, 129.227, -43.675, 239.739, 45.633, 21.59, 203.835]

**Tulos**

117.845

**Esimerkki 0.1496**

[84.527, 159.538, -20.208, 42.181, -12.587, -86.549, 131.349, 63.615, 150.304]

**Tulos**

56.908

**Esimerkki 0,1497**

[-42.302, -97.429, 201.825, 175.51, -81.726]

**Tulos**

31.176

**Esimerkki 0.1498**

[128.385, -84.329, 241.852, 245.243, 212.529, 192.414, 180.395, 45.773]

**Tulos**

145.283

**Esimerkki 0.1499**

[24.214, -38.12, -20.291, -25.889, 103.868, -26.712, -53.855, 42.555, -72.174, 166.651]

**Tulos**

10.025

**Esimerkki 0.1500**

[-52.224, 38.627, 215.231, 221.215]

**Tulos**

105.712

**Esimerkki 0.1501**

[14.211, -10.736, -78.368, 5.847, 197.61, 102.038, 221.906, -16.19, 183.615]

**Tulos**

68.881

**Esimerkki 0.1502**

[-76.483, -8.26, 202.493, 21.071, 216.377, 114.082, 25.18, 196.896, 138.408, 235.872]

**Tulos**

106.564

**Esimerkki 0.1503**

[-47.708, 249.692, 226.159, -91.502, 29.929]

**Tulos**

73.314

**Esimerkki 0.1504**

[201.239, 15.641, 229.657, -97.205, -28.876]

**Tulos**

64.091

**Esimerkki 0.1505**

[135.925, -52.132, 208.485]

**Tulos**

97.426

**Esimerkki 0.1506**

[24.623, 226.798, 94.269, 43.28]

**Tulos**

97.242

**Esimerkki 0.1507**

[12.876, 32.314, 30.011, 85.208, 198.607, 42.897, 164.296, -67.107, -71.645, 182.32]

**Tulos**

60.978

**Esimerkki 0.1508**

[-22.536, 152.196, 165.985, 74.415, 227.614, 103.706, 91.838]

**Tulos**

113.317

**Esimerkki 0.1509**

[153.931, -83.966, 5.848, -27.34, 55.539, 121.727]

**Tulos**

37.623

**Esimerkki 0.1510**

[218.33, 160.735, 82.339, -7.711, 178.433, -4.988, 148.44, 179.731]

**Tulos**

119.414

**Esimerkki 0.1511**

[4.421, 4.277, 84.947, 214.928]

**Tulos**

77.143

**Esimerkki 0.1512**

[-71.767, 93.635, 106.931, -66.434, -52.767, 211.46, 114.457, -90.156, 3.098, 94.998]

**Tulos**

34.346

**Esimerkki 0.1513**

[202.411, 127.775, 165.721, -41.545, 113.127, 229.974, 111.13, 208.686, 92.744, 36.522]

**Tulos**

124.654

**Esimerkki 0.1514**

[127.967, 42.005, 168.717, 172.051, -22.167]

**Tulos**

97.715

**Esimerkki 0.1515**

[85.257, 200.513, -80.531, 133.813, 157.564, -47.638]

**Tulos**

74.83

**Esimerkki 0.1516**

[146.924, 13.919, 48.08, 195.602]

**Tulos**

101.131

**Esimerkki 0.1517**

[193.899, 14.512, 156.072, 198.903, -40.471]

**Tulos**

104.583

**Esimerkki 0.1518**

[217.221, 166.907, 86.525, 229.643, -0.829, 131.757, -30.321]

**Tulos**

114.415

**Esimerkki 0.1519**

[-79.283, 40.369]

**Tulos**

-19.457

**Esimerkki 0,1520**

[99.126, 41.373, 167.732, 2.282]

**Tulos**

77.628

**Esimerkki 0.1521**

[161.707, 141.988, -37.38, -66.057]

**Tulos**

50.064

**Esimerkki 0.1522**

[-28.461, 60.434, -2.884, 230.353, 225.505, -31.839, -53.558]

**Tulos**

57.079

**Esimerkki 0.1523**

[198.958, 97.355]

**Tulos**

148.156

**Esimerkki 0.1524**

[-73.23, 41.467, 183.516, 85.92, 21.649, 218.253, 15.001]

**Tulos**

70.368

**Esimerkki 0,1525**

[153.52, 243.173]

**Tulos**

198.346

**Esimerkki 0,1526**

[110.671, -22.006, 168.421, 152.718, 116.702, -26.669, -55.023, -72.932]

**Tulos**

46.485

**Esimerkki 0.1527**

[7.352, -40.019]

**Tulos**

-16.334

**Esimerkki 0.1528**

[-88.262, -7.13, 233.712, -35.159, 235.658, 222.687, 24.571]

**Tulos**

83.725

**Esimerkki 0.1529**

[211.961, 92.893, 239.509]

**Tulos**

181.454

**Esimerkki 0.1530**

[-54.842, 239.77, -75.925, 141.822]

**Tulos**

62.706

**Esimerkki 0,1531**

[246.257, 43.753, 93.541]

**Tulos**

127.85

**Esimerkki 0,1532**

[37.118, 57.376, -12.165, -44.805, -81.242]

**Tulos**

-8.744

**Esimerkki 0,1533**

[230.397, 207.965, 180.114]

**Tulos**

206.159

**Esimerkki 0,1534**

[43.086, 109.448, 13.846, 141.08, 228.087, 42.716, -96.96]

**Tulos**

68.758

**Esimerkki 0,1535**

[-33.532, 72.93, 240.522, 81.099, 30.379, -38.788, 99.389, 81.632]

**Tulos**

66.704

**Esimerkki 0.1536**

[-94.827, -4.806, 33.138, 11.562, -68.261]

**Tulos**

-24.639

**Esimerkki 0.1537**

[-97.511, -49.274, -74.64, 228.928]

**Tulos**

1.876

**Esimerkki 0,1538**

[193.323, 35.708]

**Tulos**

114.516

**Esimerkki 0.1539**

[218.711, -55.869, -23.387, 147.697, -19.716, 107.4, 73.115, 9.797, -58.891, 190.102]

**Tulos**

58.896

**Esimerkki 0,1540**

[235.852, 239.613, 36.641, 176.324, -3.967, -16.048, -58.742, 167.568, 61.939, 174.222]

**Tulos**

101.34

**Esimerkki 0,1541**

[110.655, -3.182, -69.629, -64.748, 201.085, 192.82, 234.475]

**Tulos**

85.925

**Esimerkki 0.1542**

[197.388, 117.492, 188.739, 225.095, -31.685, 93.267]

**Tulos**

131.716

**Esimerkki 0.1543**

[-93.463, 79.59, -60.334, 47.109, 201.859, 48.991, 100.758, -60.493, 52.614, 186.306]

**Tulos**

50.294

**Esimerkki 0.1544**

[182.852, 102.398, 200.428, -71.943, 50.578, -59.389, 0.465]

**Tulos**

57.913

**Esimerkki 0,1545**

[-28.169, -40.087, 109.373, 93.992, 159.75, 126.941, 80.962, 130.541, 184.538, 102.057]

**Tulos**

91.99

**Esimerkki 0.1546**

[185.823, -4.247, 164.217, 65.819]

**Tulos**

102.903

**Esimerkki 0.1547**

[97.419, 159.058, -7.527, 47.277]

**Tulos**

74.057

**Esimerkki 0.1548**

[-10.37, -75.168, 32.201, 51.419, 4.792, 175.575, -6.252, 121.019, -88.724, 9.185]

**Tulos**

21.368

**Esimerkki 0.1549**

[196.683, 97.538, 247.799, 203.036, 203.369, -15.737]

**Tulos**

155.448

**Esimerkki 0,1550**

[244.419, -61.765, 220.149, 17.181, 153.907, 139.413, 116.16, -63.947]

**Tulos**

95.69

**Esimerkki 0.1551**

[192.529, -67.249, 123.707, 41.987, 11.587, 202.189, 12.989]

**Tulos**

73.963

**Esimerkki 0.1552**

[149.037, 38.743, 27.996, 202.664, 131.973, 32.965, 177.298, -67.983, 120.683]

**Tulos**

90.375

**Esimerkki 0.1553**

[152.092, 146.978, 206.202]

**Tulos**

168.424

**Esimerkki 0.1554**

[-95.993, 61.987, -45.819, -68.623, 0.91, 54.594]

**Tulos**

-15.491

**Esimerkki 0,1555**

[234.731, 162.689, 2.171, 126.921, 19.576, -48.613, 219.218, 114.533]

**Tulos**

103.903

**Esimerkki 0.1556**

[63.365, 30.236, 33.165, 178.655]

**Tulos**

76.355

**Esimerkki 0.1557**

[-2.008, 22.388, 152.703, 136.3]

**Tulos**

77.346

**Esimerkki 0.1558**

[79.223, -21.162, 230.605, 189.549, -1.402]

**Tulos**

95.363

**Esimerkki 0.1559**

[211.913, -76.034, -16.199, 33.594]

**Tulos**

38.319

**Esimerkki 0,1560**

[83.045, 73.076, 83.874, 107.255]

**Tulos**

86.812

**Esimerkki 0.1561**

[-90.937, -71.354, 23.105, 52.417, 122.361, 140.597]

**Tulos**

29.365

**Esimerkki 0.1562**

[151.566, 66.145, 226.139, 96.531, -36.096, 56.396, -70.189, 208.907, 3.782]

**Tulos**

78.131

**Esimerkki 0.1563**

[-11.876, 131.743, -47.213]

**Tulos**

24.218

**Esimerkki 0,1564**

[56.763, 184.052]

**Tulos**

120.408

**Esimerkki 0,1565**

[-44.977, 79.906, -20.036]

**Tulos**

4.964

**Esimerkki 0.1566**

[-11.994, 165.581, -38.421, -15.903]

**Tulos**

24.816

**Esimerkki 0,1567**

[191.996, -86.097, 81.958, -22.864, 102.176, 41.523, 222.055, 2.513, 184.656, -50.416]

**Tulos**

66.75

**Esimerkki 0.1568**

[10.683, -75.948, 206.548]

**Tulos**

47.094

**Esimerkki 0.1569**

[21.953, -90.519, 92.624, 189.808, 130.57, -33.423, -16.126, 31.61, 119.582]

**Tulos**

49.564

**Esimerkki 0,1570**

[35.705, 16.602, -17.205, 141.481, 186.78, 153.488, 39.999, 44.371, 113.996, 208.914]

**Tulos**

92.413

**Esimerkki 0.1571**

[76.134, 239.206, 80.097, 88.585, 202.486, -27.557, 148.626, 215.947, -73.118, -80.315]

**Tulos**

87.009

**Esimerkki 0.1572**

[-89.81, -83.253, 140.015, 105.792, -6.112]

**Tulos**

13.326

**Esimerkki 0.1573**

[23.616, 20.954, 226.021, 221.052, 209.716, 195.313, 221.743]

**Tulos**

159.774

**Esimerkki 0.1574**

[165.227, 25.877]

**Tulos**

95.552

**Esimerkki 0,1575**

[155.527, 230.296, 22.062, 210.181, 42.788, -92.124]

**Tulos**

94.788

**Esimerkki 0.1576**

[50.821, -15.96, 192.878, 22.51, 231.681, 249.66]

**Tulos**

121.932

**Esimerkki 0.1577**

[218.691, 188.292, -65.835, 41.819]

**Tulos**

95.742

**Esimerkki 0.1578**

[247.819, 162.54, -84.068, 100.159, -93.891, 55.08, 162.844]

**Tulos**

78.64

**Esimerkki 0.1579**

[156.569, 115.707, -35.995, -45.48, 172.149, 70.383, 221.379, 88.294]

**Tulos**

92.876

**Esimerkki 0.1580**

[-1.586, 127.301]

**Tulos**

62.858

**Esimerkki 0.1581**

[-48.097, 181.077, 221.067, -10.376, -74.406, 107.838]

**Tulos**

62.851

**Esimerkki 0.1582**

[200.147, 100.852, 38.464, -77.817, -93.418, 132.195]

**Tulos**

50.07

**Esimerkki 0.1583**

[70.862, 193.626, 106.469, 38.408, 176.582, 111.828, 189.262, 52.899, 68.363, 212.746]

**Tulos**

122.104

**Esimerkki 0.1584**

[-11.831, -80.896]

**Tulos**

-46.364

**Esimerkki 0,1585**

[53.689, 92.915, 11.009, 30.726, -0.459, -32.267, 104.621]

**Tulos**

37.176

**Esimerkki 0.1586**

[-80.14, 205.432, 45.191, -9.536]

**Tulos**

40.237

**Esimerkki 0.1587**

[-26.492, -33.112, 182.462, 184.872, 87.925, -49.808, 220.675]

**Tulos**

80.932

**Esimerkki 0.1588**

[-95.787, -67.135, -80.355, 148.526, 93.325, 71.132, 9.334, 112.034]

**Tulos**

23.884

**Esimerkki 0.1589**

[-87.129, 165.353, 37.001, 249.42]

**Tulos**

91.161

**Esimerkki 0,1590**

[-17.064, 181.775, 44.086]

**Tulos**

69.599

**Esimerkki 0.1591**

[-15.605, 159.446, 13.012, 125.187, 178.859, -44.389]

**Tulos**

69.418

**Esimerkki 0.1592**

[128.6, 5.116, 6.059, -98.416, -95.267, 43.438, 90.988, 240.489, -45.447]

**Tulos**

30.618

**Esimerkki 0.1593**

[36.59, 158.023, 226.645, 38.863, 182.691, 18.624, -23.541]

**Tulos**

91.128

**Esimerkki 0.1594**

[201.251, 30.491, 63.488, 124.478, 121.544, 158.625, 84.453]

**Tulos**

112.047

**Esimerkki 0,1595**

[235.686, 14.052, -62.648, 36.22, 243.499, -19.682, 169.25, 141.358, 29.299]

**Tulos**

87.448

**Esimerkki 0.1596**

[188.692, 126.766, -89.321, 187.553, 91.166, -21.606, 12.737, 149.633]

**Tulos**

80.703

**Esimerkki 0,1597**

[92.151, 178.898, -79.697, 16.244, 77.745]

**Tulos**

57.068

**Esimerkki 0.1598**

[192.659, -70.581, 193.034, 172.595, -44.63]

**Tulos**

88.615

**Esimerkki 0.1599**

[-8.346, 174.481, -50.168, -58.647, 118.544, 134.063, 210.363]

**Tulos**

74.327

**Esimerkki 0.1600**

[83.797, 148.895, 11.724, 119.946, 160.112]

**Tulos**

104.895

**Esimerkki 0.1601**

[24.969, 33.903, -72.043, -0.768, -77.365, 158.27]

**Tulos**

11.161

**Esimerkki 0.1602**

[103.663, -40.655, 59.867, -7.683, -63.184, -39.383, 134.187, 87.706]

**Tulos**

29.315

**Esimerkki 0.1603**

[109.864, -87.797, 17.817, 48.35, 109.214]

**Tulos**

39.49

**Esimerkki 0.1604**

[51.585, 216.06, 90.446, 240.165, 72.333, -41.801, -67.933, 75.671]

**Tulos**

79.566

**Esimerkki 0.1605**

[233.239, 45.243, -83.329, 221.029, 196.435, 163.964, -17.125, 224.42, 228.382]

**Tulos**

134.695

**Esimerkki 0.1606**

[180.511, -82.668, 159.385]

**Tulos**

85.743

**Esimerkki 0.1607**

[-31.577, 108.924, -86.391]

**Tulos**

-3.015

**Esimerkki 0.1608**

[158.637, 34.783, 39.728, -83.123, -51.268, 204.769]

**Tulos**

50.588

**Esimerkki 0.1609**

[-42.657, 223.632, 190.748, 118.681, 234.975, 102.985, 240.288, 15.492, 48.071]

**Tulos**

125.802

**Esimerkki 0.1610**

[-97.66, 128.444, -63.57, -5.412, 77.05, 156.616, 152.472]

**Tulos**

49.706

**Esimerkki 0.1611**

[183.022, 131.235, 109.879, -53.343]

**Tulos**

92.698

**Esimerkki 0.1612**

[245.397, 57.152, -69.451, 127.248, 30.426, 221.018]

**Tulos**

101.965

**Esimerkki 0.1613**

[166.967, 154.381, -19.741, 157.124]

**Tulos**

114.683

**Esimerkki 0.1614**

[116.625, 14.305, 39.518, 222.302]

**Tulos**

98.188

**Esimerkki 0.1615**

[53.126, 235.803, 214.379, -13.572, 204.492, 157.953, -86.192, 62.323, 100.931]

**Tulos**

103.249

**Esimerkki 0.1616**

[198.164, 203.443, 137.014]

**Tulos**

179.54

**Esimerkki 0.1617**

[-44.895, 127.484, 211.425, -12.464, -6.147]

**Tulos**

55.081

**Esimerkki 0.1618**

[130.208, 98.642, 161.154, -63.447]

**Tulos**

81.639

**Esimerkki 0.1619**

[82.624, 94.734, -82.747, 208.844, 244.903, 62.252, 174.025, -63.276, 194.402]

**Tulos**

101.751

**Esimerkki 0.1620**

[83.224, 62.198]

**Tulos**

72.711

**Esimerkki 0.1621**

[94.444, -87.999, -40.994, -23.087]

**Tulos**

-14.409

**Esimerkki 0.1622**

[217.816, 85.707, 225.363, -73.901, 24.037]

**Tulos**

95.804

**Esimerkki 0.1623**

[99.171, 17.131, 87.99, 101.136, 99.884, 238.408, 7.495, -35.896, 63.328]

**Tulos**

75.405

**Esimerkki 0.1624**

[71.465, 73.852, 33.896, 38.012, 205.464, -37.543, -49.898, 40.256, 196.604, -10.572]

**Tulos**

56.154

**Esimerkki 0,1625**

[39.352, 115.828, -77.668, 9.902, -51.807]

**Tulos**

7.121

**Esimerkki 0.1626**

[82.439, -85.167, 100.665, -83.297]

**Tulos**

3.66

**Esimerkki 0.1627**

[216.843, 82.181, 21.409]

**Tulos**

106.811

**Esimerkki 0.1628**

[32.131, 116.887, 66.741, 218.719, 106.049, -93.999]

**Tulos**

74.421

**Esimerkki 0.1629**

[-62.449, 245.008, -20.109, 74.495, 82.036, 223.193, 176.892, 140.704, 187.656]

**Tulos**

116.381

**Esimerkki 0.1630**

[-94.286, 148.737, 234.8, 148.972]

**Tulos**

109.556

**Esimerkki 0,1631**

[182.539, 158.185]

**Tulos**

170.362

**Esimerkki 0.1632**

[-29.607, 44.351, 192.283, 206.633]

**Tulos**

103.415

**Esimerkki 0,1633**

[183.176, 235.514, 49.628]

**Tulos**

156.106

**Esimerkki 0.1634**

[242.148, 97.472, -15.031, 246.784, 54.233, -27.114]

**Tulos**

99.749

**Esimerkki 0,1635**

[127.162, 172.53, -28.489, 54.044, 26.437, 83.874, -8.712, -50.953, 141.902]

**Tulos**

57.533

**Esimerkki 0.1636**

[202.404, 146.589, 153.668, 77.542, 134.445, 9.641, 181.602]

**Tulos**

129.413

**Esimerkki 0.1637**

[102.57, 163.024, 156.925, 36.367, 198.354, 74.888, -25.537, 225.018, 242.473, -82.995]

**Tulos**

109.109

**Esimerkki 0,1638**

[169.554, -45.163, 82.04, 46.417, 216.684]

**Tulos**

93.906

**Esimerkki 0.1639**

[219.91, 37.066, 195.992, 34.657, 201.665, 140.398, 95.128]

**Tulos**

132.117

**Esimerkki 0.1640**

[131.245, 79.371, 62.963, -81.47, 171.39, 34.655]

**Tulos**

66.359

**Esimerkki 0.1641**

[80.498, 201.013, 182.812, 186.335, 57.298, 33.247, 177.558, 237.861]

**Tulos**

144.578

**Esimerkki 0.1642**

[195.18, 220.835]

**Tulos**

208.008

**Esimerkki 0.1643**

[84.635, 59.23]

**Tulos**

71.932

**Esimerkki 0.1644**

[33.475, 189.883, 183.565, 25.221, 99.633]

**Tulos**

106.355

**Esimerkki 0.1645**

[-26.745, -76.789, 118.385, -84.702, -67.839, 178.479, 134.875]

**Tulos**

25.095

**Esimerkki 0.1646**

[241.309, 24.469, 80.9, -42.473, 92.319, 171.318]

**Tulos**

94.64

**Esimerkki 0,1647**

[-65.563, 10.333]

**Tulos**

-27.615

**Esimerkki 0.1648**

[164.8, 199.879, 202.853]

**Tulos**

189.177

**Esimerkki 0.1649**

[204.196, 129.11, 102.851, 204.533, 143.912, 214.911, 89.351, 42.705, 123.403]

**Tulos**

139.441

**Esimerkki 0,1650**

[48.933, -81.971, 153.387]

**Tulos**

40.116

**Esimerkki 0.1651**

[-37.484, 244.825, 127.062, -96.561, 136.234, 77.358]

**Tulos**

75.239

**Esimerkki 0.1652**

[-89.59, -15.783, 35.306, 46.851, 97.275, 19.027, 200.372, 62.551]

**Tulos**

44.501

**Esimerkki 0.1653**

[-7.898, -72.702, -38.265, -19.34, 121.705, 56.761, 130.055, 38.452]

**Tulos**

26.096

**Esimerkki 0.1654**

[12.006, 44.764]

**Tulos**

28.385

**Esimerkki 0,1655**

[-37.477, -71.737, 196.145]

**Tulos**

28.977

**Esimerkki 0.1656**

[34.027, -63.649, -28.234, 53.151, -16.65, 212.706, 220.119, 33.88, 136.237, 58.876]

**Tulos**

64.046

**Esimerkki 0.1657**

[249.224, 40.768, 197.558, 206.868, 119.722, -23.108, 122.159, 166.539, 14.859]

**Tulos**

121.621

**Esimerkki 0.1658**

[-45.875, 119.807, 202.775, 59.895, 246.796, 37.372]

**Tulos**

103.462

**Esimerkki 0.1659**

[23.816, -51.452, 120.393, 154.193, 125.215, 15.148, 189.425]

**Tulos**

82.391

**Esimerkki 0,1660**

[157.762, 21.002, 18.81, 136.06, -35.997, -18.39, 199.371]

**Tulos**

68.374

**Esimerkki 0.1661**

[246.704, -84.038, 215.262, 146.579]

**Tulos**

131.127

**Esimerkki 0.1662**

[146.278, -96.446, -74.238, 86.029, -86.639, -67.42, 8.709]

**Tulos**

-11.961

**Esimerkki 0.1663**

[81.461, 239.025, -40.541, 93.384, 21.785, 229.96, 77.899, 201.861, 198.579]

**Tulos**

122.601

**Esimerkki 0.1664**

[-88.637, 110.942, 169.271, 131.162, 132.478, 72.08, 241.487, 169.896, 216.266]

**Tulos**

128.327

**Esimerkki 0,1665**

[104.452, 187.857]

**Tulos**

146.154

**Esimerkki 0.1666**

[-91.439, 241.636, 17.219, 126.501, 234.462, 184.828, -34.478]

**Tulos**

96.961

**Esimerkki 0,1667**

[38.418, 160.909, -2.36, 88.783, 234.261, -12.12]

**Tulos**

84.648

**Esimerkki 0.1668**

[81.674, -99.165, 56.344, 109.216]

**Tulos**

37.017

**Esimerkki 0.1669**

[247.904, 133.901]

**Tulos**

190.902

**Esimerkki 0,1670**

[133.192, 63.648, 230.508, 160.372, 77.396, 104.918, 125.243, 197.82, 52.326, 127.281]

**Tulos**

127.27

**Esimerkki 0.1671**

[43.714, 132.938, 51.464, 16.47, -5.263]

**Tulos**

47.865

**Esimerkki 0.1672**

[186.168, 74.468, -53.216]

**Tulos**

69.14

**Esimerkki 0.1673**

[-96.796, 127.634, 135.049, -55.677, 11.648, 72.63, 176.028, 48.486, 209.389, -13.558]

**Tulos**

61.483

**Esimerkki 0.1674**

[-88.151, 166.022, 32.626, 207.217, -72.572, -26.993, 93.191, 83.226, -73.248]

**Tulos**

35.702

**Esimerkki 0,1675**

[86.502, -56.025, -44.049, -34.684, 4.776, -57.238, 20.845, 217.299, 23.387]

**Tulos**

17.868

**Esimerkki 0.1676**

[-12.668, -49.351, -74.155]

**Tulos**

-45.391

**Esimerkki 0.1677**

[223.058, 69.404, 191.216]

**Tulos**

161.226

**Esimerkki 0.1678**

[173.059, -30.483, 157.12, 173.745, -65.192, -29.547, 98.641]

**Tulos**

68.192

**Esimerkki 0.1679**

[186.843, -56.7, 209.632, 33.296, -0.586, -89.733, 61.101, -78.264]

**Tulos**

33.199

**Esimerkki 0.1680**

[96.506, -66.874, -24.57, -51.21, -22.672, -17.062, -11.177, 21.295]

**Tulos**

-9.47

**Esimerkki 0.1681**

[143.279, -51.718, 94.004, -14.931, 77.142, 87.537, -51.96, 0.993]

**Tulos**

35.543

**Esimerkki 0.1682**

[135.958, 106.295, 138.576, 159.672, -37.241, 67.379, 58.779, 71.203, 191.768, -30.14]

**Tulos**

86.225

**Esimerkki 0.1683**

[118.803, -12.869, -30.761, 88.831, 217.592]

**Tulos**

76.319

**Esimerkki 0.1684**

[79.132, 226.507, 40.498, 100.658, 75.361]

**Tulos**

104.431

**Esimerkki 0,1685**

[2.302, 221.287, 110.424, -30.176, 118.489, 126.194, -89.842, 104.176, 127.858, 197.862]

**Tulos**

88.857

**Esimerkki 0.1686**

[238.225, 58.205]

**Tulos**

148.215

**Esimerkki 0.1687**

[128.472, 149.361, 71.023, -96.651]

**Tulos**

63.051

**Esimerkki 0.1688**

[148.686, 15.171, 231.446, -26.126, 176.16, -52.493, 27.957]

**Tulos**

74.4

**Esimerkki 0.1689**

[-73.802, 167.727]

**Tulos**

46.962

**Esimerkki 0,1690**

[-93.873, 217.909, -85.155, 21.87, 65.662, 172.1, -21.035, -1.759, 83.798, -47.665]

**Tulos**

31.185

**Esimerkki 0.1691**

[-84.97, 158.563, 27.96, 41.849, -2.101, 35.984, 57.271, 148.387]

**Tulos**

47.868

**Esimerkki 0.1692**

[100.12, 196.476, -69.362, -98.278, -88.557, -78.605]

**Tulos**

-6.368

**Esimerkki 0.1693**

[-66.768, 102.414, 16.822, 237.427, 202.346, 28.853, 210.711, -11.824, -63.676, 242.05]

**Tulos**

89.836

**Esimerkki 0.1694**

[-15.327, 40.258, 209.752, -51.985, -28.634, -45.879, -63.239, 30.253, 180.29, 246.794]

**Tulos**

50.228

**Esimerkki 0,1695**

[80.136, 12.031, -72.917, 157.456]

**Tulos**

44.176

**Esimerkki 0.1696**

[-80.155, 77.691, 229.301, -44.331, -32.834, -20.125, 241.433, 73.598, 40.039]

**Tulos**

53.846

**Esimerkki 0,1697**

[-47.48, -30.165, 248.212, 201.326, 243.535]

**Tulos**

123.086

**Esimerkki 0.1698**

[108.721, 201.766, 182.881, 45.335, 25.986]

**Tulos**

112.938

**Esimerkki 0.1699**

[117.533, 165.004, 47.135, 36.04, 41.132, 151.275, -4.899, 143.367]

**Tulos**

87.073

**Esimerkki 0.1700**

[237.7, 90.125, -2.777]

**Tulos**

108.349

**Esimerkki 0.1701**

[-19.13, 98.86, 158.686, 230.23]

**Tulos**

117.161

**Esimerkki 0.1702**

[-63.535, -60.035, 158.784, 54.581, 85.296]

**Tulos**

35.018

**Esimerkki 0.1703**

[58.622, -76.222, 70.299, 134.77, 102.578, 153.455]

**Tulos**

73.917

**Esimerkki 0.1704**

[191.13, 29.064, 242.6]

**Tulos**

154.265

**Esimerkki 0.1705**

[117.885, -2.272, 133.066, -35.471, 63.027, -60.102, 160.023]

**Tulos**

53.737

**Esimerkki 0.1706**

[148.279, 68.633, 123.81]

**Tulos**

113.574

**Esimerkki 0.1707**

[228.914, -94.905, 97.719, 62.309, 176.354]

**Tulos**

94.078

**Esimerkki 0.1708**

[219.497, 235.01, 215.02, 234.454, 139.127, 236.36, -40.693]

**Tulos**

176.968

**Esimerkki 0.1709**

[243.851, 197.293, -85.315, 158.097, 245.874, 85.687, -14.869, 96.95, 35.581]

**Tulos**

107.017

**Esimerkki 0.1710**

[-25.82, -62.027, 184.808, 155.825, 60.411, 193.439, 50.282, 31.475]

**Tulos**

73.549

**Esimerkki 0.1711**

[216.358, 5.593, 127.534, 244.441, 124.313, 162.482, 104.253, 69.739, -72.636]

**Tulos**

109.12

**Esimerkki 0.1712**

[234.671, 141.166, 27.945, -37.672, 17.846, 172.972, 89.249]

**Tulos**

92.311

**Esimerkki 0.1713**

[197.04, 245.68, 48.92, -96.501, -47.164, 114.349]

**Tulos**

77.054

**Esimerkki 0.1714**

[-7.775, 55.997, 216.046]

**Tulos**

88.089

**Esimerkki 0.1715**

[-31.481, 140.369, 219.794, -7.293, 208.549, -32.35, 81.227]

**Tulos**

82.688

**Esimerkki 0.1716**

[54.131, 86.834, 31.709, -91.888, 101.74]

**Tulos**

36.505

**Esimerkki 0.1717**

[216.998, 178.72, -56.339, 16.194, -25.704, -74.26, 58.073, 35.27, 148.949]

**Tulos**

55.322

**Esimerkki 0.1718**

[126.198, -70.303]

**Tulos**

27.947

**Esimerkki 0.1719**

[9.402, 165.935, 73.176, -48.578, -71.775, 36.588, 35.561]

**Tulos**

28.616

**Esimerkki 0.1720**

[-98.681, 205.519, 30.121, 8.145]

**Tulos**

36.276

**Esimerkki 0.1721**

[11.254, -38.6, -5.333, 59.487, 176.658, 92.193, -9.753, 233.793]

**Tulos**

64.962

**Esimerkki 0.1722**

[128.893, 241.837, 3.015, 210.487]

**Tulos**

146.058

**Esimerkki 0.1723**

[166.821, -77.778, 60.886, -7.724, -20.848]

**Tulos**

24.271

**Esimerkki 0.1724**

[58.407, -69.319, -54.848, -86.651, 18.009, 120.074, 160.505, 60.501, 121.406]

**Tulos**

36.454

**Esimerkki 0,1725**

[169.536, 94.247, 117.894, 153.191]

**Tulos**

133.717

**Esimerkki 0.1726**

[-98.809, 139.617, 148.76, -52.034, 161.969, 117.253, 16.668, 164.37, -75.91, -31.599]

**Tulos**

49.028

**Esimerkki 0.1727**

[-35.205, 236.859]

**Tulos**

100.827

**Esimerkki 0.1728**

[211.927, 190.941, -74.44, 7.991, -80.894, 48.291, 127.383, -51.774]

**Tulos**

47.428

**Esimerkki 0.1729**

[15.995, 115.135, 231.829, 145.814]

**Tulos**

127.193

**Esimerkki 0.1730**

[105.182, 44.508, 158.846, -64.727, -21.832, -97.733]

**Tulos**

20.707

**Esimerkki 0,1731**

[-97.578, 131.426, 109.091]

**Tulos**

47.646

**Esimerkki 0.1732**

[-97.524, -44.575, 213.291, -6.679, 75.572, 142.403, 176.858, -83.553]

**Tulos**

46.974

**Esimerkki 0,1733**

[63.795, 57.14, -85.188, 205.568, 239.148, -22.972, 77.724]

**Tulos**

76.459

**Esimerkki 0.1734**

[62.65, 155.504, 55.659, 77.757]

**Tulos**

87.892

**Esimerkki 0,1735**

[143.758, 177.679, 162.768, -41.591, 203.051, 214.977, 238.225]

**Tulos**

156.981

**Esimerkki 0.1736**

[-74.011, -3.459, 90.465, 21.88, 30.098, 138.19]

**Tulos**

33.86

**Esimerkki 0.1737**

[190.815, -38.448, 221.169, 214.219, -41.104, 70.021, 192.216, 180.356, 71.353]

**Tulos**

117.844

**Esimerkki 0,1738**

[37.372, 52.175, 140.442]

**Tulos**

76.663

**Esimerkki 0.1739**

[17.32, -99.392, -94.299, 120.34, -8.171, 90.241, 231.79, 44.711]

**Tulos**

37.817

**Esimerkki 0,1740**

[25.333, -1.498, -55.447, 126.658, -59.362, 49.057, -31.655]

**Tulos**

7.584

**Esimerkki 0,1741**

[110.265, 123.686, 150.704, 221.562, 229.167, 2.272, 244.105, 217.565, 75.979]

**Tulos**

152.812

**Esimerkki 0.1742**

[34.89, -76.551, 144.195, -30.076, 199.798, 174.753, -48.057]

**Tulos**

56.993

**Esimerkki 0.1743**

[-26.183, 53.059, 40.287, 243.387, 22.271, 21.177, 45.84, 77.377, 7.971, 119.368]

**Tulos**

60.455

**Esimerkki 0.1744**

[-19.074, 72.372, 213.216, 101.647, 143.126, 145.458, 80.88, -93.455]

**Tulos**

80.521

**Esimerkki 0.1745**

[-49.117, 50.022, 238.053, 248.438, -41.867, 33.921, 80.366, 116.72, -7.03, 62.247]

**Tulos**

73.175

**Esimerkki 0.1746**

[58.271, 233.766, -9.758, -40.349, 145.507, 90.294, 186.999]

**Tulos**

94.961

**Esimerkki 0.1747**

[-87.354, 58.942, -9.16]

**Tulos**

-12.524

**Esimerkki 0.1748**

[173.909, 74.372, 85.438]

**Tulos**

111.24

**Esimerkki 0.1749**

[-91.294, 1.16, 9.709, 3.916, 64.354, -30.537, 87.655, -68.425, -43.299, 212.53]

**Tulos**

14.577

**Esimerkki 0,1750**

[175.015, 7.294, -30.146, 197.862, 76.557, 16.567, 176.301]

**Tulos**

88.493

**Esimerkki 0.1751**

[-8.175, 70.223, -54.646, 6.612, 198.024, 73.148]

**Tulos**

47.531

**Esimerkki 0.1752**

[55.844, 90.536, -75.69]

**Tulos**

23.563

**Esimerkki 0.1753**

[-57.634, 64.635, 243.83, 92.355, -47.169, 177.764, 88.867, 226.929]

**Tulos**

98.697

**Esimerkki 0.1754**

[51.543, 232.919]

**Tulos**

142.231

**Esimerkki 0,1755**

[174.54, 146.255, 25.722, 197.448]

**Tulos**

135.991

**Esimerkki 0.1756**

[51.59, 133.0, -53.003]

**Tulos**

43.862

**Esimerkki 0.1757**

[93.869, 159.558, 192.549, 93.476, -40.309, -24.447, -22.307]

**Tulos**

64.627

**Esimerkki 0.1758**

[212.152, 148.978, 43.118, 195.466, 212.311, 175.256, -35.062, 146.384]

**Tulos**

137.325

**Esimerkki 0.1759**

[70.335, 188.89, 85.523, 37.436, -31.786]

**Tulos**

70.08

**Esimerkki 0,1760**

[65.486, -51.995, 170.628, -23.998, 83.128, -57.38, 130.737, 214.738]

**Tulos**

66.418

**Esimerkki 0.1761**

[150.916, 139.591, 203.366]

**Tulos**

164.624

**Esimerkki 0.1762**

[-28.405, -0.151, -13.788, 229.613, -36.885]

**Tulos**

30.077

**Esimerkki 0.1763**

[128.008, 187.232, 160.214, 105.716, 127.264, 231.126, -40.425, 224.955, 28.983, 159.633]

**Tulos**

131.271

**Esimerkki 0.1764**

[159.843, 97.236, 57.934, 180.847, -81.322, 94.73, 61.821, 211.031]

**Tulos**

97.765

**Esimerkki 0,1765**

[62.793, 230.498, 115.136, 223.819, 228.298, 52.2, -16.393, 111.376, 248.459]

**Tulos**

139.576

**Esimerkki 0.1766**

[-86.657, 29.121, 121.634, -87.296, 115.09, 57.714, -30.534, 201.717, -93.628, -0.801]

**Tulos**

22.636

**Esimerkki 0,1767**

[-37.955, -11.098, 160.218, -10.693, 65.69]

**Tulos**

33.232

**Esimerkki 0.1768**

[88.755, -64.951, 41.008]

**Tulos**

21.604

**Esimerkki 0.1769**

[53.092, 242.414]

**Tulos**

147.753

**Esimerkki 0.1770**

[17.179, 203.776, 133.127, 115.995, 134.129, 121.111]

**Tulos**

120.886

**Esimerkki 0.1771**

[130.629, 28.773, 0.572, 111.989, -62.688, 42.132, -0.458, -9.938, 8.206]

**Tulos**

27.691

**Esimerkki 0.1772**

[205.744, -5.99, 197.154, 8.13, 191.973]

**Tulos**

119.402

**Esimerkki 0.1773**

[100.154, 90.27, 1.618, 227.9, -46.241, 70.688]

**Tulos**

74.065

**Esimerkki 0.1774**

[-96.868, -96.843, 90.418, 59.488, 179.551, 130.535]

**Tulos**

44.38

**Esimerkki 0,1775**

[132.337, 22.984, 134.637, -86.549, 21.826, 186.962, 51.9, 247.067, 27.577, 242.599]

**Tulos**

98.134

**Esimerkki 0.1776**

[58.578, 228.252, 240.764, -56.071, 11.356, 179.293, -40.022, 41.436, 142.424]

**Tulos**

89.557

**Esimerkki 0.1777**

[237.815, 247.314, 96.179, -62.425, 212.4, 238.304]

**Tulos**

161.598

**Esimerkki 0.1778**

[131.164, 99.999, 138.488, 57.264, -40.069, -82.402, -42.836]

**Tulos**

37.373

**Esimerkki 0.1779**

[65.773, 123.905, 213.859, 169.293]

**Tulos**

143.208

**Esimerkki 0.1780**

[197.167, -39.617, 9.231, 158.841, 147.656, 169.999, -27.818, -60.471, -51.856, 8.285]

**Tulos**

51.142

**Esimerkki 0.1781**

[195.257, 122.676, 96.331, 163.695]

**Tulos**

144.49

**Esimerkki 0.1782**

[-30.053, -38.855, 221.016, -4.563, -42.383, 194.358, 174.21, 99.965, 224.828, 246.88]

**Tulos**

104.54

**Esimerkki 0.1783**

[195.64, 22.532, -32.619, 249.056, -93.903, -27.887, 55.242]

**Tulos**

52.58

**Esimerkki 0.1784**

[15.342, 122.755, -76.83, -20.822]

**Tulos**

10.111

**Esimerkki 0.1785**

[208.919, -76.778, 146.946]

**Tulos**

93.029

**Esimerkki 0.1786**

[227.601, -61.961, 78.822, -29.52, 126.039, -44.098, 112.374, -19.23, 69.758]

**Tulos**

51.087

**Esimerkki 0.1787**

[-22.937, 186.489, 200.514, -95.957]

**Tulos**

67.027

**Esimerkki 0.1788**

[49.625, -76.969, 191.119, -79.085]

**Tulos**

21.173

**Esimerkki 0.1789**

[54.209, 124.549, 29.894, 158.752, -29.732, -82.407, 95.733, -42.14]

**Tulos**

38.607

**Esimerkki 0.1790**

[-60.505, -96.74, -6.839]

**Tulos**

-54.695

**Esimerkki 0.1791**

[97.151, 211.662, 13.529, -83.075, 185.97, 7.1, 99.109, -81.725, 17.327]

**Tulos**

51.894

**Esimerkki 0.1792**

[51.02, -71.125, 178.19, -7.234, -99.571, -17.215]

**Tulos**

5.677

**Esimerkki 0.1793**

[191.998, -49.501, -49.007, 115.064, 171.542, -20.141, 30.369, 118.756, 146.515]

**Tulos**

72.844

**Esimerkki 0.1794**

[-24.904, -67.909, 54.638, 104.106]

**Tulos**

16.483

**Esimerkki 0,1795**

[149.427, 77.161, 73.68, 99.415, -56.392, -45.358, -46.051, 195.746]

**Tulos**

55.954

**Esimerkki 0.1796**

[95.072, 62.772, 68.969]

**Tulos**

75.604

**Esimerkki 0.1797**

[128.879, -20.076, -56.915, 143.354]

**Tulos**

48.811

**Esimerkki 0.1798**

[77.489, -7.259, 13.133, 54.234, -79.321, -70.512, -28.704, -90.5]

**Tulos**

-16.43

**Esimerkki 0.1799**

[146.718, -28.411, 28.965, 108.277, 30.824, 137.989, 176.78]

**Tulos**

85.877

**Esimerkki 0.1800**

[171.698, -5.668, 118.313, -64.423, 141.098, 152.672, 139.97, 145.452, 2.611, 53.006]

**Tulos**

85.473

**Esimerkki 0.1801**

[142.928, 11.272, 10.768]

**Tulos**

54.989

**Esimerkki 0.1802**

[-64.114, 105.827, -30.412, 155.456, -16.765, 244.443]

**Tulos**

65.739

**Esimerkki 0.1803**

[-95.008, -68.249, -17.225, 6.412, -32.397, 20.924, 27.795]

**Tulos**

-22.535

**Esimerkki 0.1804**

[5.519, 194.532, -80.402, -36.566, 4.818]

**Tulos**

17.58

**Esimerkki 0.1805**

[95.502, -46.156]

**Tulos**

24.673

**Esimerkki 0.1806**

[178.494, 84.034, 110.102, -84.859, 20.308, 247.007, 56.012, 240.672, 37.917, 51.613]

**Tulos**

94.13

**Esimerkki 0.1807**

[194.51, 206.517, 237.018, 15.588, 225.639, 151.33, 86.404, -97.613, 21.886, -42.347]

**Tulos**

99.893

**Esimerkki 0.1808**

[159.792, -43.736, 228.998, -37.566, 168.36, 152.919, -12.736, 235.284]

**Tulos**

106.414

**Esimerkki 0.1809**

[127.07, 194.274, -95.229, -33.653, -30.855]

**Tulos**

32.321

**Esimerkki 0.1810**

[-55.339, -19.268, -82.749]

**Tulos**

-52.452

**Esimerkki 0.1811**

[41.755, -49.024, 113.869]

**Tulos**

35.533

**Esimerkki 0.1812**

[8.563, 200.478, 83.435]

**Tulos**

97.492

**Esimerkki 0.1813**

[235.122, 16.454]

**Tulos**

125.788

**Esimerkki 0.1814**

[70.568, -80.778]

**Tulos**

-5.105

**Esimerkki 0.1815**

[160.202, 88.34, -78.994]

**Tulos**

56.516

**Esimerkki 0.1816**

[-67.262, 24.43, 134.849, 169.866, 135.675, -0.188, 154.397, 249.332]

**Tulos**

100.137

**Esimerkki 0.1817**

[215.462, 87.029, 196.412]

**Tulos**

166.301

**Esimerkki 0.1818**

[106.34, 108.415, -70.814, 29.027, 214.822, 125.464, 92.065, 171.329, -49.775, 94.561]

**Tulos**

82.143

**Esimerkki 0.1819**

[206.479, 34.41, 88.883]

**Tulos**

109.924

**Esimerkki 0,1820**

[159.045, -60.641, 175.848, -46.506, 98.337, 152.115]

**Tulos**

79.7

**Esimerkki 0.1821**

[157.92, 102.506, 34.274, 212.874]

**Tulos**

126.893

**Esimerkki 0.1822**

[126.721, -59.967, 241.616, 119.302, 65.776, 176.569, 165.693, 153.632, -69.814, 76.733]

**Tulos**

99.626

**Esimerkki 0.1823**

[14.375, 39.798, 14.094, 80.355, 134.593, 207.881, -75.451, -84.944]

**Tulos**

41.338

**Esimerkki 0.1824**

[67.583, -10.297, 201.716, 213.773, -58.542, 130.437, 225.492, 55.267]

**Tulos**

103.179

**Esimerkki 0,1825**

[-68.889, 87.274, 226.539, -68.827, 28.425, 213.866, -79.699, 147.004, -69.122]

**Tulos**

46.286

**Esimerkki 0,1826**

[171.654, 131.424, 59.906, 168.252, 28.876, -0.525]

**Tulos**

93.264

**Esimerkki 0.1827**

[66.166, -25.173, -85.489, 244.275, 145.173, -17.519, 219.69]

**Tulos**

78.16

**Esimerkki 0.1828**

[244.142, 233.163, 129.146, 103.193, -55.34]

**Tulos**

130.861

**Esimerkki 0.1829**

[-89.159, 73.352, 205.054]

**Tulos**

63.082

**Esimerkki 0,1830**

[190.227, 238.717, 36.923, -8.297, 162.975, 42.425, -39.263, 48.462, -20.609]

**Tulos**

72.396

**Esimerkki 0,1831**

[246.744, 206.484, 194.841]

**Tulos**

216.023

**Esimerkki 0,1832**

[-83.355, -43.208]

**Tulos**

-63.282

**Esimerkki 0,1833**

[4.435, 100.482, 125.267, -76.982, 9.994, 192.069, 54.099, -40.749]

**Tulos**

46.077

**Esimerkki 0,1834**

[85.978, 243.752]

**Tulos**

164.865

**Esimerkki 0,1835**

[158.125, -25.953]

**Tulos**

66.086

**Esimerkki 0,1836**

[-22.313, 92.492, 71.429, 8.979, 199.21, 140.229, 101.187, 35.847, 163.828, 17.24]

**Tulos**

80.813

**Esimerkki 0.1837**

[23.509, 68.138]

**Tulos**

45.824

**Esimerkki 0,1838**

[213.149, 184.894, -93.544, 195.043, 78.738, 229.09, 220.609, 80.079, 7.498]

**Tulos**

123.951

**Esimerkki 0.1839**

[135.575, 134.352, 209.54, 199.614, 87.027, 215.933, 49.266, 167.288, 164.589]

**Tulos**

151.465

**Esimerkki 0,1840**

[93.753, 61.544, 65.299]

**Tulos**

73.532

**Esimerkki 0,1841**

[-81.432, -63.059, 150.144, 55.203, 215.405, -89.797, 72.946]

**Tulos**

37.059

**Esimerkki 0.1842**

[-21.184, 213.048, -62.869, 66.984, 41.509, 124.51, -37.612]

**Tulos**

46.341

**Esimerkki 0.1843**

[181.325, 222.883, -24.652, 14.641]

**Tulos**

98.549

**Esimerkki 0.1844**

[-5.238, -27.361, 210.235, 123.97]

**Tulos**

75.402

**Esimerkki 0,1845**

[72.326, -74.6, 127.566, -54.848, 198.529, -44.061, -28.155]

**Tulos**

28.108

**Esimerkki 0.1846**

[152.501, 132.611, 239.321, 210.197, 77.474, 178.585]

**Tulos**

165.115

**Esimerkki 0.1847**

[190.825, -67.743]

**Tulos**

61.541

**Esimerkki 0.1848**

[114.823, 215.081, 143.2, 148.349, 239.654, 200.034, 96.055, -92.113, -38.088, 247.918]

**Tulos**

127.491

**Esimerkki 0.1849**

[218.586, 30.112, 136.184, 145.044, 225.977, 114.078, 146.556]

**Tulos**

145.22

**Esimerkki 0,1850**

[52.119, 131.353, 126.981, 214.907, 12.475, -95.35]

**Tulos**

73.748

**Esimerkki 0.1851**

[131.953, -35.8, 84.087]

**Tulos**

60.08

**Esimerkki 0.1852**

[1.296, -31.354, 1.25]

**Tulos**

-9.603

**Esimerkki 0.1853**

[222.53, 103.599]

**Tulos**

163.064

**Esimerkki 0.1854**

[129.383, 68.528, 8.149, 126.578, 124.684]

**Tulos**

91.464

**Esimerkki 0,1855**

[81.09, 67.064, 134.568, 153.026, 93.382, -28.117, 27.819, -24.987]

**Tulos**

62.981

**Esimerkki 0,1856**

[-41.085, 179.367, -47.961, 211.743, 242.631, 167.835, 165.969, 48.244]

**Tulos**

115.843

**Esimerkki 0,1857**

[199.358, 192.848, -22.704, 141.997]

**Tulos**

127.875

**Esimerkki 0,1858**

[-89.559, 114.212, 147.967, 223.15, 17.575, 151.317, 77.783]

**Tulos**

91.778

**Esimerkki 0.1859**

[222.872, 248.13, 146.734, -94.651, -91.589, 115.045]

**Tulos**

91.09

**Esimerkki 0,1860**

[219.769, -36.26, 3.121, -22.5, 124.372]

**Tulos**

57.7

**Esimerkki 0.1861**

[34.413, 151.38, -95.133, 145.705, -32.112, -33.076, 74.322, -67.125, 171.927, -51.021]

**Tulos**

29.928

**Esimerkki 0.1862**

[200.877, 99.184, 166.775, 67.705]

**Tulos**

133.635

**Esimerkki 0.1863**

[26.857, -69.553, -37.942]

**Tulos**

-26.879

**Esimerkki 0.1864**

[80.113, -28.006, -40.254, 222.454, 29.784, 129.871, 141.71, -44.716, -22.74]

**Tulos**

52.024

**Esimerkki 0.1865**

[-16.238, -20.414, 64.929, -69.146]

**Tulos**

-10.217

**Esimerkki 0.1866**

[106.861, -28.954, -94.597, 45.106, -93.504, 215.902, -28.9, 101.328, 54.908, -18.72]

**Tulos**

25.943

**Esimerkki 0,1867**

[-39.649, -90.089, -67.126, 5.692, -66.245, 237.786, -16.044, 11.185]

**Tulos**

-3.061

**Esimerkki 0.1868**

[143.312, 189.404]

**Tulos**

166.358

**Esimerkki 0.1869**

[-59.161, -39.256, 87.516, -42.331, 126.613, 83.322, -70.322, 237.693, 86.413]

**Tulos**

45.61

**Esimerkki 0,1870**

[230.093, 14.77, 71.036, 144.89, -41.93]

**Tulos**

83.772

**Esimerkki 0.1871**

[-95.173, 84.8, 35.182, 230.019, 129.892, -56.207, 11.839, 232.794, 214.094]

**Tulos**

87.471

**Esimerkki 0.1872**

[-42.36, -36.434, 129.626]

**Tulos**

16.944

**Esimerkki 0.1873**

[-21.466, 88.563]

**Tulos**

33.549

**Esimerkki 0.1874**

[159.408, 172.122, 1.008, 206.113, 125.723, 41.284, -30.332]

**Tulos**

96.475

**Esimerkki 0,1875**

[93.5, -25.782]

**Tulos**

33.859

**Esimerkki 0.1876**

[239.565, 124.578, 160.831, 206.161, 26.952, 72.424, 55.933, 235.947]

**Tulos**

140.299

**Esimerkki 0.1877**

[-3.857, -93.605, 43.857, -73.731, 84.094, -24.492, -41.811, 115.552, 231.429, 130.678]

**Tulos**

36.811

**Esimerkki 0.1878**

[-1.327, 64.61, 41.579]

**Tulos**

34.954

**Esimerkki 0.1879**

[-82.4, 88.88, 42.677, -32.502, 158.793, 70.635, 180.965]

**Tulos**

61.007

**Esimerkki 0.1880**

[37.682, -89.045, 205.087, -4.482, -80.326, -16.802, 182.907, 122.918, 233.533]

**Tulos**

65.719

**Esimerkki 0.1881**

[5.614, 16.139, -58.06]

**Tulos**

-12.102

**Esimerkki 0.1882**

[239.856, 55.271, -85.733, 237.012, -58.101, 214.516, 107.481, 156.275]

**Tulos**

108.322

**Esimerkki 0.1883**

[-86.547, 20.748, -64.952, -77.386, 17.298, 87.491, -62.88, 125.092]

**Tulos**

-5.142

**Esimerkki 0.1884**

[-40.416, -24.51, 13.291, 245.866, 102.777, 136.082, 89.702, 246.627, 206.586]

**Tulos**

108.445

**Esimerkki 0,1885**

[120.153, 196.121, 173.035, 124.255, -31.472]

**Tulos**

116.418

**Esimerkki 0.1886**

[108.347, -52.675, 169.084, 39.611, 39.009]

**Tulos**

60.675

**Esimerkki 0.1887**

[160.634, 146.352, 13.558, 237.765, 247.158, -46.669, 79.718]

**Tulos**

119.788

**Esimerkki 0.1888**

[185.617, -71.333, 131.491, 25.042]

**Tulos**

67.704

**Esimerkki 0.1889**

[-23.601, 116.411, 185.479, 9.0, 100.544, 225.564, -29.135]

**Tulos**

83.466

**Esimerkki 0.1890**

[-40.927, 157.3, -25.06, -83.842, 158.235]

**Tulos**

33.141

**Esimerkki 0.1891**

[179.144, 114.883, -6.86, 137.104, 4.024, 55.61, 169.274, -60.246, 66.322, -92.91]

**Tulos**

56.634

**Esimerkki 0.1892**

[-98.136, -2.631]

**Tulos**

-50.384

**Esimerkki 0.1893**

[-67.154, 33.622, 180.112, 149.655, 37.878, 101.921, 183.35, 24.104]

**Tulos**

80.436

**Esimerkki 0.1894**

[-1.938, 99.849, 140.899]

**Tulos**

79.603

**Esimerkki 0,1895**

[-43.761, 63.747, 83.698]

**Tulos**

34.561

**Esimerkki 0.1896**

[-71.836, -27.028, 181.838, -98.154, 246.742, 80.215, -91.229, 240.062, -24.786]

**Tulos**

48.425

**Esimerkki 0,1897**

[183.332, -51.581, -15.684, 140.965, 37.376, 37.734, 71.356]

**Tulos**

57.643

**Esimerkki 0.1898**

[85.662, 10.345, 54.595, 35.65, -90.56]

**Tulos**

19.138

**Esimerkki 0.1899**

[0.805, 193.336]

**Tulos**

97.071

**Esimerkki 0.1900**

[-49.216, -80.047, 247.597, 163.066, -25.912, 69.21]

**Tulos**

54.116

**Esimerkki 0.1901**

[-2.072, -16.793, 113.036, 97.406, -32.156, -94.022]

**Tulos**

10.9

**Esimerkki 0.1902**

[-7.337, 240.555, 6.442]

**Tulos**

79.887

**Esimerkki 0.1903**

[48.301, 210.344, -59.747, 170.736, -68.566]

**Tulos**

60.214

**Esimerkki 0.1904**

[30.886, 164.514]

**Tulos**

97.7

**Esimerkki 0.1905**

[238.489, 85.764, 219.917, 10.605, -15.771, -69.744, 183.494, -14.646, -14.628, 17.812]

**Tulos**

64.129

**Esimerkki 0.1906**

[246.664, -63.255, 15.307, 244.474]

**Tulos**

110.797

**Esimerkki 0.1907**

[-40.261, 208.056, 139.827, 38.355, -48.351, 120.074]

**Tulos**

69.617

**Esimerkki 0.1908**

[-37.656, 202.233, 247.604, 115.991, 231.733, -36.4, 137.835]

**Tulos**

123.049

**Esimerkki 0.1909**

[98.897, 6.799, -61.828, 140.707, 220.007, -50.275]

**Tulos**

59.051

**Esimerkki 0.1910**

[78.466, 52.475, -48.487, 118.207, 125.374, 5.689, 211.198, 70.821]

**Tulos**

76.718

**Esimerkki 0.1911**

[40.66, 108.337, 198.97, -57.311, -52.26]

**Tulos**

47.679

**Esimerkki 0.1912**

[-58.852, 10.842, 19.092, 210.131, 74.048, -64.497, -29.991, -4.15, -59.958, 47.093]

**Tulos**

14.376

**Esimerkki 0.1913**

[-72.023, 158.892, -59.403, -71.503, 124.717, -5.183, 76.91, 113.766]

**Tulos**

33.272

**Esimerkki 0.1914**

[230.511, 82.342, -99.243, -34.634, 128.067, 115.224, 57.888, -51.674, 81.074]

**Tulos**

56.617

**Esimerkki 0.1915**

[147.279, 157.326, 249.244, 166.429, 120.856, 238.448, 95.46]

**Tulos**

167.863

**Esimerkki 0.1916**

[-29.246, -24.597, 17.187, -68.121, -40.469, -28.26, 6.428, 38.379, -43.732, -35.752]

**Tulos**

-20.818

**Esimerkki 0.1917**

[141.168, 29.09, 4.391, 214.622, 125.493, 21.955, 26.26, -80.499, 14.059, 130.952]

**Tulos**

62.749

**Esimerkki 0.1918**

[209.13, -12.632, 247.489, 55.492, 8.967, -90.158, 193.743]

**Tulos**

87.433

**Esimerkki 0.1919**

[47.317, 200.549]

**Tulos**

123.933

**Esimerkki 0.1920**

[106.247, 143.92]

**Tulos**

125.083

**Esimerkki 0.1921**

[93.8, 178.7, 115.271, 158.073, -51.09, 119.37, -14.279, 207.771, 227.777]

**Tulos**

115.044

**Esimerkki 0.1922**

[165.026, -21.443, 83.393, -53.913, -85.678, 70.331, 93.359, 164.983, 150.174]

**Tulos**

62.915

**Esimerkki 0.1923**

[-38.715, 205.647, 66.034, 49.8, -92.051, 111.017, 149.689]

**Tulos**

64.489

**Esimerkki 0.1924**

[-46.251, -60.671, -90.813, 212.531]

**Tulos**

3.699

**Esimerkki 0,1925**

[217.978, 70.977, 31.129, -87.408, -99.013, 249.862, -87.151, 207.527, 43.432]

**Tulos**

60.815

**Esimerkki 0,1926**

[183.067, 42.938, 151.408, 74.067, 31.638, -74.794, 128.139, 191.154]

**Tulos**

90.952

**Esimerkki 0.1927**

[69.573, 130.842, -69.843, -81.999, -26.657, 99.42, 158.922, 191.106, -23.293]

**Tulos**

49.786

**Esimerkki 0.1928**

[129.453, 232.284, -34.595]

**Tulos**

109.047

**Esimerkki 0.1929**

[94.329, 154.819, 83.732, 213.846, 14.951, -10.405, 159.846, 125.164, 75.84, 121.074]

**Tulos**

103.32

**Esimerkki 0.1930**

[13.229, 7.664, -35.554, -10.329, 37.622, 120.378, -25.316, 215.976]

**Tulos**

40.459

**Esimerkki 0.1931**

[192.729, -10.365, -4.816, -39.407, -59.007]

**Tulos**

15.827

**Esimerkki 0.1932**

[227.874, 175.626, 193.094, 63.963, 139.938]

**Tulos**

160.099

**Esimerkki 0.1933**

[87.02, -25.654, -67.979, 52.368, 20.078, 160.939, 4.162, 205.092, -57.092, -68.35]

**Tulos**

31.058

**Esimerkki 0.1934**

[87.229, -13.025]

**Tulos**

37.102

**Esimerkki 0.1935**

[-40.869, -63.208, 44.536, 185.896, 188.45]

**Tulos**

62.961

**Esimerkki 0.1936**

[-54.497, 84.792, -83.644, 163.476]

**Tulos**

27.532

**Esimerkki 0.1937**

[206.606, -76.103, -16.863, 44.126, 4.019, 15.088]

**Tulos**

29.479

**Esimerkki 0.1938**

[-8.919, 78.616, 52.765, 99.699]

**Tulos**

55.54

**Esimerkki 0.1939**

[173.556, -50.672, -8.039, -20.968]

**Tulos**

23.469

**Esimerkki 0.1940**

[205.118, 101.679, 202.802, 144.052, -2.468, 239.04, -94.46, 214.193, 193.626]

**Tulos**

133.731

**Esimerkki 0.1941**

[-60.055, 69.92, 66.661, 67.678, 118.838, 93.501, 208.247, 24.465, 171.544]

**Tulos**

84.533

**Esimerkki 0.1942**

[160.844, -61.583, 34.288, 211.658, 128.11, 5.309, 235.818, -7.692, 219.053]

**Tulos**

102.867

**Esimerkki 0.1943**

[74.544, 174.524, 150.021, 228.816]

**Tulos**

156.976

**Esimerkki 0.1944**

[166.878, 68.781, -94.418, 245.98, 38.679, 199.166, 7.332, 233.425]

**Tulos**

108.228

**Esimerkki 0.1945**

[124.476, -44.663, -76.334]

**Tulos**

1.16

**Esimerkki 0.1946**

[86.152, 7.562, 222.175]

**Tulos**

105.296

**Esimerkki 0.1947**

[29.034, -54.326, -58.682, 183.167, 90.118, 204.187, -73.463, 23.582, -3.476]

**Tulos**

37.793

**Esimerkki 0.1948**

[136.386, -37.004, 33.718, 90.062, 149.886]

**Tulos**

74.61

**Esimerkki 0.1949**

[190.503, 143.425, 79.502, 2.082, 71.683, 19.236, 140.73]

**Tulos**

92.452

**Esimerkki 0.1950**

[41.621, 71.805, 69.776, 1.679, 216.449, 183.495, -59.441, -6.956]

**Tulos**

64.804

**Esimerkki 0.1951**

[-9.328, -51.819, 134.007, 92.363, 52.291, 62.697, 232.293]

**Tulos**

73.215

**Esimerkki 0.1952**

[-28.685, 205.732, 63.154]

**Tulos**

80.067

**Esimerkki 0.1953**

[58.129, 32.922, 59.797, 116.654]

**Tulos**

66.875

**Esimerkki 0.1954**

[228.8, 154.207]

**Tulos**

191.504

**Esimerkki 0.1955**

[206.277, 60.852, 245.567, 49.604]

**Tulos**

140.575

**Esimerkki 0.1956**

[-3.427, 24.512, 77.802]

**Tulos**

32.962

**Esimerkki 0.1957**

[46.634, 232.374]

**Tulos**

139.504

**Esimerkki 0.1958**

[33.905, 132.104, 112.228, -58.704, 210.17, -41.027, 214.05, 156.077]

**Tulos**

94.85

**Esimerkki 0.1959**

[172.536, -11.071, 223.514, 84.104, -54.525]

**Tulos**

82.912

**Esimerkki 0.1960**

[143.709, 201.375, 175.193, 44.325, 32.313, 216.109, -96.501, 208.253, 183.53, 80.768]

**Tulos**

118.907

**Esimerkki 0.1961**

[-71.041, 48.412, 235.089, 219.887]

**Tulos**

108.087

**Esimerkki 0.1962**

[227.64, 220.635, 89.568]

**Tulos**

179.281

**Esimerkki 0.1963**

[131.335, 125.26, -38.354]

**Tulos**

72.747

**Esimerkki 0.1964**

[-83.249, -7.201, -69.883, 13.134, 208.71, 247.493]

**Tulos**

51.501

**Esimerkki 0.1965**

[-3.074, 229.837, 19.376, 143.117, 23.013, 133.065, -23.631]

**Tulos**

74.529

**Esimerkki 0.1966**

[83.601, -24.145, 39.637, -49.359, 31.637, 16.541, 132.963]

**Tulos**

32.982

**Esimerkki 0.1967**

[182.878, 117.881]

**Tulos**

150.38

**Esimerkki 0.1968**

[-44.467, 86.159, -43.999, 148.282, 177.87, 116.57, 129.645, 105.238]

**Tulos**

84.412

**Esimerkki 0.1969**

[155.513, 206.938, 235.799]

**Tulos**

199.417

**Esimerkki 0.1970**

[28.311, 71.017, 6.064]

**Tulos**

35.131

**Esimerkki 0.1971**

[-10.414, -79.638, -46.653]

**Tulos**

-45.568

**Esimerkki 0.1972**

[56.855, -15.42, 166.529, 79.81, 18.164, 127.812, 129.26, 60.611, 87.934]

**Tulos**

79.062

**Esimerkki 0.1973**

[47.486, 116.844, 198.678, 51.075]

**Tulos**

103.521

**Esimerkki 0.1974**

[169.842, 149.921, 11.08]

**Tulos**

110.281

**Esimerkki 0.1975**

[-47.209, 100.643]

**Tulos**

26.717

**Esimerkki 0.1976**

[-82.413, 85.334, 105.65, -33.592]

**Tulos**

18.745

**Esimerkki 0.1977**

[-98.008, 83.205, 68.043, -36.627, 37.526, 138.475, -48.73]

**Tulos**

20.555

**Esimerkki 0.1978**

[77.445, 104.353, -42.235, 111.327, 166.266, -70.294, -92.342, 132.12, 142.664]

**Tulos**

58.812

**Esimerkki 0.1979**

[171.844, 14.203, 177.919, 222.065, 116.848, 232.681]

**Tulos**

155.927

**Esimerkki 0.1980**

[0.143, 85.929, 82.338]

**Tulos**

56.137

**Esimerkki 0.1981**

[145.468, -4.908, -83.481, -29.278, 71.597, -97.832, 129.486, 75.188, 207.193, -95.616]

**Tulos**

31.782

**Esimerkki 0.1982**

[96.309, 244.35, 155.842, 66.28, -81.853, 75.484]

**Tulos**

92.735

**Esimerkki 0.1983**

[156.146, -88.32, 1.211, 11.366, 216.143, 66.781, 155.255]

**Tulos**

74.083

**Esimerkki 0.1984**

[84.624, 77.809, 87.962, 181.674, -81.772, 67.113]

**Tulos**

69.568

**Esimerkki 0.1985**

[135.124, 197.498, 51.567]

**Tulos**

128.063

**Esimerkki 0.1986**

[-45.573, 113.249]

**Tulos**

33.838

**Esimerkki 0.1987**

[143.464, 59.853, 6.334, 82.417, 70.465, 76.902, 115.095, 220.446, 234.369, 137.83]

**Tulos**

114.718

**Esimerkki 0.1988**

[56.814, -39.813, 109.828, 59.679, 132.983, 206.443, 138.532]

**Tulos**

94.924

**Esimerkki 0.1989**

[58.026, 115.969, 145.375, 150.742, -55.764, 149.883, 167.287, -36.648, 87.587, -59.57]

**Tulos**

72.289

**Esimerkki 0.1990**

[220.962, 208.438, 236.846, 109.22, 52.06, -5.693, -89.2, 228.518]

**Tulos**

120.144

**Esimerkki 0.1991**

[-28.435, -27.248, 207.783, 11.037, 69.144, 72.298, -15.965, 67.366, 180.976]

**Tulos**

59.662

**Esimerkki 0.1992**

[243.697, 165.796, 114.518, 207.298, 191.227]

**Tulos**

184.507

**Esimerkki 0.1993**

[80.477, 243.204, -63.196, -43.064, 114.61, 74.079, -71.568]

**Tulos**

47.792

**Esimerkki 0.1994**

[97.872, 19.182, 103.241, 68.451, 4.369]

**Tulos**

58.623

**Esimerkki 0.1995**

[20.085, -17.507, -44.329, 41.319]

**Tulos**

-0.108

**Esimerkki 0.1996**

[5.045, 222.963, 122.881]

**Tulos**

116.963

**Esimerkki 0.1997**

[-19.278, 109.83, 88.373, -15.469, 129.854, -89.842]

**Tulos**

33.911

**Esimerkki 0.1998**

[-85.627, 62.865, 114.501, 150.346, -66.735, 161.613]

**Tulos**

56.161

**Esimerkki 0.1999**

[-92.742, 120.077]

**Tulos**

13.667

**Esimerkki 0.2000**

[-20.702, 4.455, 37.838, 102.751, 231.6, -23.075, 236.527, 227.109, 171.708, 46.239]

**Tulos**

101.445

**Esimerkki 0.2001**

[-25.251, 145.49]

**Tulos**

60.12

**Esimerkki 0.2002**

[149.961, 203.86]

**Tulos**

176.91

**Esimerkki 0.2003**

[70.276, -38.994, 78.571, -63.471, -97.672]

**Tulos**

-10.258

**Esimerkki 0.2004**

[-43.857, 12.344, 79.271, -50.184, 200.6, -98.583]

**Tulos**

16.598

**Esimerkki 0.2005**

[103.968, 40.869, 222.248, -58.154, 167.823, 172.128, 82.7, 222.189]

**Tulos**

119.221

**Esimerkki 0.2006**

[20.191, -54.91, 19.381, -4.587, -31.613, -11.765, 198.59, 101.529]

**Tulos**

29.602

**Esimerkki 0.2007**

[-89.96, 150.865, 149.644, 226.39, 106.098, 237.886, -71.247]

**Tulos**

101.382

**Esimerkki 0.2008**

[-40.93, -66.459, 224.153, 188.382]

**Tulos**

76.286

**Esimerkki 0.2009**

[182.66, 166.228, 127.473, 61.425, 25.582, 21.339, -47.206, 149.029, 128.768]

**Tulos**

90.589

**Esimerkki 0.2010**

[213.217, -36.92, 166.187, 199.664, 222.995, 60.119, 46.382, 6.489, 30.734]

**Tulos**

100.985

**Esimerkki 0.2011**

[-66.116, 177.788, -23.418, 245.983, 124.609, 124.261, -66.339, 71.088, 41.044, 150.689]

**Tulos**

77.959

**Esimerkki 0.2012**

[-51.467, 12.889, 52.598, 221.387]

**Tulos**

58.852

**Esimerkki 0.2013**

[182.85, -30.057, 144.933, 16.168]

**Tulos**

78.474

**Esimerkki 0.2014**

[61.739, -99.854, -53.677]

**Tulos**

-30.597

**Esimerkki 0.2015**

[-20.222, 66.877]

**Tulos**

23.327

**Esimerkki 0.2016**

[-6.992, -36.177, -95.203, 87.142]

**Tulos**

-12.808

**Esimerkki 0.2017**

[183.841, 14.026]

**Tulos**

98.934

**Esimerkki 0.2018**

[167.211, -98.391, 26.603, 52.192]

**Tulos**

36.904

**Esimerkki 0.2019**

[107.607, 164.81, 4.043, 166.931, 67.604, 63.21, -12.837, -45.435, -82.499]

**Tulos**

48.159

**Esimerkki 0.2020**

[222.32, 97.036, 3.207, -51.705, -72.276]

**Tulos**

39.716

**Esimerkki 0.2021**

[-80.198, 169.031, 131.549, 162.898, 244.553, -55.66, 219.031]

**Tulos**

113.029

**Esimerkki 0.2022**

[-86.432, 99.258, 88.896, 202.372, 84.037, 104.104]

**Tulos**

82.039

**Esimerkki 0.2023**

[-34.191, -54.725]

**Tulos**

-44.458

**Esimerkki 0.2024**

[-7.512, 206.657, 173.557, -4.518, -57.789, -98.474]

**Tulos**

35.32

**Esimerkki 0.2025**

[117.162, 23.007, 144.696, -81.197, 55.967, -10.966, 220.074, 65.301, 199.508, -4.278]

**Tulos**

72.927

**Esimerkki 0.2026**

[79.469, -6.675, 166.751, 71.23, 198.744, -48.012]

**Tulos**

76.918

**Esimerkki 0.2027**

[205.819, 18.369, 221.68, 47.234, 188.28, -30.555, -86.475, 92.192, -33.895]

**Tulos**

69.183

**Esimerkki 0.2028**

[165.78, -65.839, -70.05, -8.504, -77.289, 141.978, -2.607, -86.849, 92.431, 209.984]

**Tulos**

29.904

**Esimerkki 0.2029**

[10.448, 125.617, 11.571, 54.796, -50.407, 57.182]

**Tulos**

34.868

**Esimerkki 0.2030**

[129.959, 90.299, 174.763, -89.515, 110.138, 19.796]

**Tulos**

72.573

**Esimerkki 0.2031**

[-64.231, 200.235, -9.547, -98.817, 222.577, 12.8, 214.705, 122.883, 216.246, 113.126]

**Tulos**

92.998

**Esimerkki 0.2032**

[-25.521, 195.926, 77.241, 19.481, 25.586, 199.048, 149.617]

**Tulos**

91.625

**Esimerkki 0,2033**

[-2.218, -45.899, 213.366]

**Tulos**

55.083

**Esimerkki 0.2034**

[-42.36, 50.276]

**Tulos**

3.958

**Esimerkki 0.2035**

[-99.248, 168.832, 98.054, -32.987, 42.078, 88.896, 65.633]

**Tulos**

47.323

**Esimerkki 0.2036**

[151.736, -8.775, 103.168, 245.031, 180.74, 228.248, 158.522, 179.855]

**Tulos**

154.816

**Esimerkki 0.2037**

[-72.672, 36.449, 4.256, 145.797, 103.187, 208.111, 108.054, -44.634, 173.476, 170.388]

**Tulos**

83.241

**Esimerkki 0,2038**

[189.041, -64.259, 101.875, 135.905, 101.085, 137.593, -5.653, 223.83]

**Tulos**

102.427

**Esimerkki 0.2039**

[-89.223, 39.232, -58.439, 66.462, 75.211, 241.482, 176.865]

**Tulos**

64.513

**Esimerkki 0.2040**

[-18.311, 190.186, -92.778, 90.838, -56.699, 126.325, 88.378, 124.585, 57.63, 166.504]

**Tulos**

67.666

**Esimerkki 0.2041**

[0.859, 248.896, -40.131, -80.511, 173.606, 48.645, 11.93, 124.678, 95.747]

**Tulos**

64.858

**Esimerkki 0.2042**

[56.466, -9.624, -34.641, 10.073, 168.537, 81.175, -98.931]

**Tulos**

24.722

**Esimerkki 0.2043**

[-95.413, 56.579, -14.016, 236.999, -2.36, 173.346, 139.982]

**Tulos**

70.731

**Esimerkki 0.2044**

[233.742, -71.075]

**Tulos**

81.333

**Esimerkki 0.2045**

[230.538, -33.561]

**Tulos**

98.488

**Esimerkki 0.2046**

[-59.989, 221.241, 59.918]

**Tulos**

73.723

**Esimerkki 0.2047**

[149.49, -9.978, 18.085, 6.166, -24.323, 150.907, 160.705, 107.408]

**Tulos**

69.808

**Esimerkki 0.2048**

[166.643, 246.788, -69.254, -10.306, -88.121, 24.476, -36.495, -64.252, 20.08]

**Tulos**

21.062

**Esimerkki 0.2049**

[235.595, 227.906, -52.328, 100.922, 124.177, 149.582, -41.738]

**Tulos**

106.302

**Esimerkki 0,2050**

[69.026, 152.794, 185.336, 194.504, -77.114, 154.703, -84.573, 199.655, 43.948, 239.687]

**Tulos**

107.797

**Esimerkki 0.2051**

[16.957, 247.704, 88.678, -40.547, -16.984]

**Tulos**

59.162

**Esimerkki 0.2052**

[-3.914, 130.866, 20.311, 206.531, 173.235, -43.858, -78.715, 117.81, 73.103]

**Tulos**

66.152

**Esimerkki 0.2053**

[12.362, 69.938, -46.662, -71.788]

**Tulos**

-9.038

**Esimerkki 0.2054**

[127.796, -50.299, -71.687, 177.299, 38.169, 148.763, 154.663, -56.403, -15.171]

**Tulos**

50.348

**Esimerkki 0,2055**

[122.498, 163.253, 127.792, 176.377, 2.011, 163.808]

**Tulos**

125.956

**Esimerkki 0.2056**

[220.906, 91.49]

**Tulos**

156.198

**Esimerkki 0.2057**

[-84.492, -63.706, -97.344, 95.51, -31.257]

**Tulos**

-36.258

**Esimerkki 0.2058**

[15.978, 42.835, 72.629, 237.113, -64.827]

**Tulos**

60.746

**Esimerkki 0.2059**

[-3.836, 37.067, -16.403, 208.203, 178.783, 5.204, 83.722, 39.753, 19.525]

**Tulos**

61.335

**Esimerkki 0,2060**

[249.013, -43.447, 148.312, -34.41, 222.203]

**Tulos**

108.334

**Esimerkki 0.2061**

[84.218, 124.752]

**Tulos**

104.485

**Esimerkki 0.2062**

[53.149, -52.432, 68.975, 236.861]

**Tulos**

76.638

**Esimerkki 0.2063**

[161.155, 137.077, 34.815, 115.989]

**Tulos**

112.259

**Esimerkki 0,2064**

[191.917, -95.857]

**Tulos**

48.03

**Esimerkki 0,2065**

[-43.766, -0.095, 65.852, 0.241, 31.404, 130.034, 171.659]

**Tulos**

50.761

**Esimerkki 0,2066**

[33.377, -91.899, 38.653, 191.655, 45.296, 125.377, 47.769, 53.938, -18.513, -45.174]

**Tulos**

38.048

**Esimerkki 0.2067**

[-91.008, 169.514, 49.749, 150.994, -11.229, 187.64, 162.395, 243.206]

**Tulos**

107.658

**Esimerkki 0.2068**

[159.243, 17.964, 13.543, 175.402, -52.441, -34.741, 158.461]

**Tulos**

62.49

**Esimerkki 0.2069**

[-83.219, 220.38, -26.68, 12.638, 202.53]

**Tulos**

65.13

**Esimerkki 0,2070**

[-54.897, 241.797, 213.609, 49.526, 248.389, 136.498, 18.475, 246.026]

**Tulos**

137.428

**Esimerkki 0.2071**

[183.254, -42.77, 130.203, -80.827, 131.635, 185.199, 179.114]

**Tulos**

97.973

**Esimerkki 0.2072**

[-25.148, 67.249, 58.27, -3.073]

**Tulos**

24.325

**Esimerkki 0.2073**

[-25.443, 215.498, 191.151, 161.076, -55.186, 90.885]

**Tulos**

96.33

**Esimerkki 0.2074**

[181.863, 156.933, 234.002, 55.138, 186.018]

**Tulos**

162.791

**Esimerkki 0,2075**

[153.025, 39.886, -99.426, -70.452, 174.618, 67.696]

**Tulos**

44.224

**Esimerkki 0.2076**

[159.994, 6.945, -84.819, 56.486, 218.218, 242.23]

**Tulos**

99.842

**Esimerkki 0.2077**

[18.553, 176.909, 151.64, -97.401, 137.643, 230.123]

**Tulos**

102.911

**Esimerkki 0.2078**

[13.852, 63.213, 161.02, 64.898, -26.428, -66.286]

**Tulos**

35.045

**Esimerkki 0.2079**

[215.294, 121.402, 83.177]

**Tulos**

139.958

**Esimerkki 0.2080**

[41.243, 42.05, 129.613, 108.69, -18.229, 26.634, 135.149, 191.522]

**Tulos**

82.084

**Esimerkki 0.2081**

[-84.199, 194.52, 76.585, 145.929, -74.102]

**Tulos**

51.747

**Esimerkki 0.2082**

[137.665, 130.267, 21.383, -62.647, 27.478, 7.504, -85.626, 80.306]

**Tulos**

32.041

**Esimerkki 0.2083**

[182.258, -29.431, 183.159, 213.025, -52.846, 107.38, 57.19]

**Tulos**

94.391

**Esimerkki 0.2084**

[-4.604, 168.987, 102.481, 11.004, -5.365, 246.149, 7.486, 158.495]

**Tulos**

85.579

**Esimerkki 0,2085**

[128.899, -15.862, 152.639, 183.098, 75.752, 54.786, 159.782, 116.084, -36.669]

**Tulos**

90.945

**Esimerkki 0.2086**

[227.657, -51.382, 22.309, 130.1, 238.49, 74.387, -64.526, 207.509]

**Tulos**

98.068

**Esimerkki 0.2087**

[124.807, 131.922, 5.54]

**Tulos**

87.423

**Esimerkki 0.2088**

[-54.935, 43.542, -4.185, 73.039, -21.628, 212.972, 239.247]

**Tulos**

69.722

**Esimerkki 0.2089**

[161.758, 200.472, 88.298, 149.851, -49.385, 106.684, 154.755]

**Tulos**

116.062

**Esimerkki 0,2090**

[64.125, 54.204, 66.227, 80.319, -59.304, 229.945, 41.394]

**Tulos**

68.13

**Esimerkki 0.2091**

[-64.683, -27.143]

**Tulos**

-45.913

**Esimerkki 0.2092**

[65.736, 236.475, 147.285, 42.065, 57.101]

**Tulos**

109.732

**Esimerkki 0.2093**

[139.821, 19.149, 166.7, 184.73]

**Tulos**

127.6

**Esimerkki 0.2094**

[12.756, -0.667, 72.255, 112.734, 52.952, -73.403, -33.839, 71.471, -44.483, 133.245]

**Tulos**

30.302

**Esimerkki 0,2095**

[61.655, 79.981, 174.723, 182.9, 12.684, 19.154, 10.665, -43.196, -11.897, 103.397]

**Tulos**

59.007

**Esimerkki 0.2096**

[155.567, 46.373, 64.41, 45.766, 233.658, 109.22, 222.628, -6.498, -50.331]

**Tulos**

91.199

**Esimerkki 0.2097**

[203.45, 193.726, 199.582, 32.046, 74.008, 170.209, 121.427, -33.882, 78.136, -8.04]

**Tulos**

103.066

**Esimerkki 0.2098**

[-31.323, 30.378, 122.524, -38.765, 49.153]

**Tulos**

26.393

**Esimerkki 0.2099**

[139.244, 184.59, 132.272, -57.545, 148.006, 242.409, 236.896, -2.984, 79.723]

**Tulos**

122.512

**Esimerkki 0.2100**

[203.883, -95.013, 151.386, 244.084, 60.393]

**Tulos**

112.947

**Esimerkki 0.2101**

[-22.632, 143.317, -36.14]

**Tulos**

28.182

**Esimerkki 0.2102**

[239.305, -3.873, 86.329, -92.847, 77.604, 156.062, 212.011]

**Tulos**

96.37

**Esimerkki 0.2103**

[150.433, -29.116, 78.901, 14.882, -98.283, 244.537, 155.912, 119.125, 204.008, 24.525]

**Tulos**

86.492

**Esimerkki 0.2104**

[229.505, 232.741, 204.089, -55.253, 171.92]

**Tulos**

156.6

**Esimerkki 0.2105**

[-10.458, 179.095, 14.687, 16.22, -27.798, -77.438, 47.503]

**Tulos**

20.259

**Esimerkki 0.2106**

[176.423, 236.2, 216.6, 222.181, 133.478, 5.495, -41.237, 27.421]

**Tulos**

122.07

**Esimerkki 0.2107**

[-64.689, 102.388, -7.548, -94.157, 67.533, -46.354, 217.479, 99.944, 1.462]

**Tulos**

30.673

**Esimerkki 0.2108**

[146.049, 119.759, -78.518, 187.118, 157.339]

**Tulos**

106.349

**Esimerkki 0.2109**

[224.636, -75.008]

**Tulos**

74.814

**Esimerkki 0.2110**

[162.252, 85.022, 109.869, 93.117]

**Tulos**

112.565

**Esimerkki 0.2111**

[90.392, 230.712, 105.948, -32.845, -34.99, 154.256, 84.567]

**Tulos**

85.434

**Esimerkki 0.2112**

[-68.943, 227.288, 178.786]

**Tulos**

112.377

**Esimerkki 0.2113**

[-20.556, -81.756, 49.938]

**Tulos**

-17.458

**Esimerkki 0.2114**

[249.053, 95.147, 78.214, 98.619, 235.658, -87.649, 28.294]

**Tulos**

99.619

**Esimerkki 0.2115**

[197.615, 67.813, 111.163, 200.636]

**Tulos**

144.307

**Esimerkki 0.2116**

[89.583, 153.453, 20.381, -17.436, -31.071, 91.041, 198.063]

**Tulos**

72.002

**Esimerkki 0.2117**

[249.612, 59.432, 151.713, -95.154, 74.384, 4.004, -48.569]

**Tulos**

56.489

**Esimerkki 0.2118**

[44.669, 246.342, -0.223, 10.643, 42.112, 92.598, -80.159, 59.387, -61.294]

**Tulos**

39.342

**Esimerkki 0.2119**

[88.91, 17.795, -53.521, 125.658, -97.076, 64.237]

**Tulos**

24.334

**Esimerkki 0.2120**

[58.281, 201.042, 140.982, 176.047, -61.802, 165.234]

**Tulos**

113.297

**Esimerkki 0.2121**

[135.181, -93.107, 148.782, 41.753, 60.485]

**Tulos**

58.619

**Esimerkki 0.2122**

[-16.773, 193.623, 47.212, -55.477, 186.157, 155.293, 121.04, 132.907, 245.468]

**Tulos**

112.161

**Esimerkki 0.2123**

[51.209, 99.06, 127.443, 206.331, -7.072, 177.117, -15.635, 176.81]

**Tulos**

101.908

**Esimerkki 0.2124**

[79.918, 121.732, -98.56, 204.154, -98.411, 155.766]

**Tulos**

60.767

**Esimerkki 0,2125**

[103.476, 245.818, -36.218, 121.299, 25.636, 57.621, 84.397, 98.277, 52.464]

**Tulos**

83.641

**Esimerkki 0.2126**

[-61.231, 110.674, 83.73, 123.574, 46.056, 166.585]

**Tulos**

78.231

**Esimerkki 0.2127**

[192.498, -98.211, 199.268, -61.53, -8.847, 11.316, -6.379, 102.105]

**Tulos**

41.277

**Esimerkki 0.2128**

[178.244, 193.248, 239.448, 32.139]

**Tulos**

160.77

**Esimerkki 0.2129**

[232.312, -91.217, 80.736, 1.007, -88.542, 82.515, 215.274, -86.326, 150.463, -87.969]

**Tulos**

40.825

**Esimerkki 0.2130**

[-6.507, 144.895, 157.652, 246.949, 133.287]

**Tulos**

135.255

**Esimerkki 0.2131**

[96.028, -18.0, -33.646, 138.488, -64.444, 207.122, 245.085]

**Tulos**

81.519

**Esimerkki 0.2132**

[105.19, -19.03, -21.673, 142.086, 100.97, 172.364, -74.976, -63.524]

**Tulos**

42.676

**Esimerkki 0.2133**

[119.065, 223.913, 153.757]

**Tulos**

165.578

**Esimerkki 0.2134**

[26.595, 220.402, -36.236, -79.382, -17.51, -71.282]

**Tulos**

7.098

**Esimerkki 0,2135**

[25.459, 160.415, -24.047, 28.012, 34.143]

**Tulos**

44.796

**Esimerkki 0.2136**

[-13.848, 242.615]

**Tulos**

114.384

**Esimerkki 0.2137**

[229.773, 89.428, 74.272]

**Tulos**

131.158

**Esimerkki 0.2138**

[-70.607, 41.066, 49.614, 153.242, 247.484, 218.658, -64.966, 210.487, 218.364, -76.468]

**Tulos**

92.687

**Esimerkki 0.2139**

[73.603, -84.154, 222.739, 205.594, 215.842]

**Tulos**

126.725

**Esimerkki 0.2140**

[99.995, -95.685, 41.622, 66.987, -99.13, 151.852, 179.826, 59.189, 113.313, -29.925]

**Tulos**

48.804

**Esimerkki 0.2141**

[143.515, 90.672, -30.932, 88.617, 21.12]

**Tulos**

62.598

**Esimerkki 0.2142**

[84.093, 64.362, 210.324, -13.821, -95.186, 223.273]

**Tulos**

78.841

**Esimerkki 0.2143**

[-14.506, 165.485, 217.937, 16.563, -50.907]

**Tulos**

66.914

**Esimerkki 0.2144**

[133.862, -35.116, -25.576, -49.959, 138.154, 170.434, 14.785]

**Tulos**

49.512

**Esimerkki 0.2145**

[50.594, 90.601]

**Tulos**

70.598

**Esimerkki 0.2146**

[69.943, -11.838, 61.595, 15.873, 69.424, 118.009, -97.406, 128.441]

**Tulos**

44.255

**Esimerkki 0.2147**

[-41.481, 207.37, 4.963, 35.394, 69.871, 105.685, 209.227]

**Tulos**

84.433

**Esimerkki 0.2148**

[185.122, 136.468]

**Tulos**

160.795

**Esimerkki 0.2149**

[199.57, 59.623, -94.857, -78.117, 137.123, 247.573, 80.311, 198.771]

**Tulos**

93.75

**Esimerkki 0,2150**

[-26.778, 150.628]

**Tulos**

61.925

**Esimerkki 0.2151**

[-16.859, 65.309, -33.432, -57.702, 3.867, -28.83, -34.842, 170.229, 31.362]

**Tulos**

11.011

**Esimerkki 0.2152**

[248.59, -78.396, 13.022, 0.79, 194.759, 112.156, 17.217, 209.386, -1.716]

**Tulos**

79.534

**Esimerkki 0.2153**

[29.63, 110.962, 69.986]

**Tulos**

70.193

**Esimerkki 0.2154**

[-97.058, 134.779, 14.681, 66.036, 106.819]

**Tulos**

45.051

**Esimerkki 0.2155**

[188.928, 120.164, 90.363, 172.394, 57.603, 126.05, 225.848, -9.867, -61.872, 59.334]

**Tulos**

96.894

**Esimerkki 0.2156**

[-95.209, 15.099, 141.733, 107.425, 132.078, 184.485]

**Tulos**

80.935

**Esimerkki 0.2157**

[102.108, 190.164, -77.687, 64.968, 159.517]

**Tulos**

87.814

**Esimerkki 0.2158**

[105.409, 210.43, 239.181, 147.134, 65.769, 128.913]

**Tulos**

149.473

**Esimerkki 0.2159**

[62.982, 162.598, -87.283, -49.754, 3.283, -4.2, -20.891]

**Tulos**

9.534

**Esimerkki 0,2160**

[120.623, 69.374, 47.751, 121.126, -98.66, -52.379, 172.802, -65.776, 164.938, -35.405]

**Tulos**

44.439

**Esimerkki 0.2161**

[17.996, 37.344, 232.362, 6.077, 137.23, 228.2, 210.116]

**Tulos**

124.189

**Esimerkki 0.2162**

[-23.822, 181.841]

**Tulos**

79.01

**Esimerkki 0.2163**

[-16.831, -79.159, -96.408, 235.189, -22.791, 216.258]

**Tulos**

39.376

**Esimerkki 0.2164**

[-87.373, 50.861, 169.775, 142.665, -94.849, 145.418]

**Tulos**

54.416

**Esimerkki 0,2165**

[157.14, 120.799, -55.651, -50.479, 89.067, 192.279, 57.227, 137.972]

**Tulos**

81.044

**Esimerkki 0.2166**

[130.586, 81.896, 244.753, -30.811, -67.327, -60.747, 190.813, 137.548, 168.775]

**Tulos**

88.387

**Esimerkki 0.2167**

[-48.765, 186.301, 26.635, 208.904, -9.624, 182.277, 124.366, -54.983]

**Tulos**

76.889

**Esimerkki 0.2168**

[129.944, 231.59, 182.352, 59.487, 8.188, 205.296]

**Tulos**

136.143

**Esimerkki 0.2169**

[118.498, -21.039, -71.374, -71.397, -84.955, 164.23]

**Tulos**

5.66

**Esimerkki 0.2170**

[170.006, 67.893]

**Tulos**

118.95

**Esimerkki 0.2171**

[-76.49, -78.756, 153.971, 188.474, 249.513]

**Tulos**

87.342

**Esimerkki 0.2172**

[-86.31, 154.085, -73.682, 247.059, 81.38, -75.433, -33.222, 186.855]

**Tulos**

50.092

**Esimerkki 0.2173**

[0.36, 136.072, -58.899]

**Tulos**

25.844

**Esimerkki 0.2174**

[58.371, 4.131]

**Tulos**

31.251

**Esimerkki 0,2175**

[-95.427, -98.447]

**Tulos**

-96.937

**Esimerkki 0.2176**

[-22.693, 10.739, 193.652, 126.178, 158.341, 141.582, -74.397, 233.007, 228.669, 65.75]

**Tulos**

106.083

**Esimerkki 0.2177**

[170.667, 186.784, -36.763, 51.763, 107.885, -23.866, 29.933, 129.331, -95.257, 121.173]

**Tulos**

64.165

**Esimerkki 0.2178**

[58.342, 39.871, 91.143, 38.576, -56.362, 93.171, 160.82, 145.719]

**Tulos**

71.41

**Esimerkki 0.2179**

[31.374, 133.278, 44.894, 50.815, -86.693, 1.53]

**Tulos**

29.2

**Esimerkki 0.2180**

[-33.41, -56.603, 61.267]

**Tulos**

-9.582

**Esimerkki 0.2181**

[67.696, 143.816, 94.638, 152.667, 171.195, 236.205, 42.694]

**Tulos**

129.844

**Esimerkki 0.2182**

[40.735, 180.126, 212.447]

**Tulos**

144.436

**Esimerkki 0.2183**

[133.309, 99.886, 83.459, -20.236, 100.458, -42.182, -10.716, -6.752]

**Tulos**

42.153

**Esimerkki 0.2184**

[41.247, -77.975, 218.04, 100.967, 58.151, 222.332, -51.194, 68.503]

**Tulos**

72.509

**Esimerkki 0,2185**

[-44.354, 8.74, 34.514, 207.685]

**Tulos**

51.646

**Esimerkki 0.2186**

[243.637, 139.127, 116.73, 82.14, 164.02, -25.322, 80.153, 9.224, 97.371]

**Tulos**

100.787

**Esimerkki 0.2187**

[-84.009, 61.567, 57.773, 118.79]

**Tulos**

38.53

**Esimerkki 0.2188**

[196.355, -41.441]

**Tulos**

77.457

**Esimerkki 0.2189**

[-93.372, 58.665, 230.024, 208.635]

**Tulos**

100.988

**Esimerkki 0.2190**

[65.986, 9.59, 64.248, -33.452, -63.282]

**Tulos**

8.618

**Esimerkki 0.2191**

[165.675, -73.496, 18.652, -84.822, 109.015, 229.08]

**Tulos**

60.684

**Esimerkki 0.2192**

[-82.505, 18.989, 233.566, 131.183, 164.298, 50.856, -82.19, 198.224, -62.661, -36.631]

**Tulos**

53.313

**Esimerkki 0.2193**

[-94.986, -29.919, 224.315, 25.992, 87.083, 211.521, 9.682, 128.285, 244.936]

**Tulos**

89.657

**Esimerkki 0.2194**

[139.588, 249.548, -37.059]

**Tulos**

117.359

**Esimerkki 0,2195**

[-97.744, 153.416, 176.566, 146.602, 19.187, -45.119, 50.745, 248.65, -62.326, 163.608]

**Tulos**

75.358

**Esimerkki 0.2196**

[78.523, 239.098, 9.698, 69.94]

**Tulos**

99.315

**Esimerkki 0.2197**

[176.346, -3.978, -1.025, 143.871]

**Tulos**

78.804

**Esimerkki 0.2198**

[-43.388, -60.347, 30.261, 69.663, -10.386, 32.761, -50.061, 141.037]

**Tulos**

13.692

**Esimerkki 0.2199**

[19.459, 126.417, -64.212, 141.708, -51.394, 141.301, -64.733]

**Tulos**

35.507

**Esimerkki 0.2200**

[160.988, 148.209, 219.224, 80.26, 241.67, 204.329, 17.901, 147.173, -19.987, 126.036]

**Tulos**

132.58

**Esimerkki 0.2201**

[194.412, 32.433]

**Tulos**

113.422

**Esimerkki 0.2202**

[79.015, 115.12, 28.584, 216.542, 5.913, -35.628, 57.618, 199.027, 23.986]

**Tulos**

76.686

**Esimerkki 0.2203**

[-13.364, -79.694, -23.447, -46.589, 144.97, -28.554, 212.875, 208.512, 171.399]

**Tulos**

60.679

**Esimerkki 0.2204**

[243.307, 121.756]

**Tulos**

182.532

**Esimerkki 0.2205**

[81.06, -17.71, 87.716, 117.392]

**Tulos**

67.114

**Esimerkki 0.2206**

[-77.909, 106.994, -93.846, 197.9, -15.053, 218.34, -11.104, 99.708]

**Tulos**

53.129

**Esimerkki 0.2207**

[113.95, 191.136, 21.78, -84.56, 116.657, 28.424, 203.7, 153.447, 145.773]

**Tulos**

98.923

**Esimerkki 0.2208**

[184.843, 120.88, -43.605, 34.499, 238.006, 59.091, 32.324, 76.395, 62.601]

**Tulos**

85.004

**Esimerkki 0.2209**

[94.954, -96.682, -23.218, -64.282]

**Tulos**

-22.307

**Esimerkki 0.2210**

[-96.903, -1.489, 182.083, 196.779, -67.602, 202.143, -20.354, -24.817, 194.439]

**Tulos**

62.698

**Esimerkki 0.2211**

[216.883, -37.346, 67.498, 41.686, 140.857, 195.57]

**Tulos**

104.191

**Esimerkki 0.2212**

[38.946, 240.592, 26.691, -5.444, -13.63, -62.499, -72.937, 24.035, 198.963, 70.323]

**Tulos**

44.504

**Esimerkki 0.2213**

[125.912, 148.932, 171.771]

**Tulos**

148.872

**Esimerkki 0.2214**

[105.74, -54.694, 123.17]

**Tulos**

58.072

**Esimerkki 0.2215**

[-7.006, -64.467, -16.842, 47.282, 144.479]

**Tulos**

20.689

**Esimerkki 0.2216**

[177.61, 160.943]

**Tulos**

169.276

**Esimerkki 0.2217**

[-40.605, 159.566, -11.706]

**Tulos**

35.752

**Esimerkki 0.2218**

[-63.418, 15.605, 36.936, -47.92, -99.465, 122.239, -35.633, 52.687]

**Tulos**

-2.371

**Esimerkki 0.2219**

[-27.22, -27.244, -20.9, -41.079, 74.415, 30.173, 196.984, 218.79]

**Tulos**

50.49

**Esimerkki 0.2220**

[-83.127, 66.484, -29.569, -5.805, -59.175, -35.429, 186.502]

**Tulos**

5.697

**Esimerkki 0.2221**

[-33.291, 215.237, 130.783, 48.065, 234.926]

**Tulos**

119.144

**Esimerkki 0.2222**

[30.716, 138.526, 134.886, -22.752, 174.381, 167.592, -55.509, 34.849, 178.013, 224.272]

**Tulos**

100.497

**Esimerkki 0.2223**

[-15.115, 242.4, 228.135, 15.24, 92.757, -45.311, -70.8]

**Tulos**

63.901

**Esimerkki 0.2224**

[6.87, 202.429, 9.703, 63.414, 225.898, 105.652, 234.083]

**Tulos**

121.15

**Esimerkki 0,2225**

[150.716, 99.101, 227.97, 201.712, 189.544]

**Tulos**

173.809

**Esimerkki 0.2226**

[136.697, 41.485, -88.189, -36.061]

**Tulos**

13.483

**Esimerkki 0.2227**

[188.004, 45.186, -31.066, 144.722, -58.634, -35.909]

**Tulos**

42.05

**Esimerkki 0.2228**

[97.144, -55.758, 182.445, -38.77]

**Tulos**

46.265

**Esimerkki 0.2229**

[-46.877, 98.238, 205.028]

**Tulos**

85.463

**Esimerkki 0.2230**

[-15.484, 222.901, 27.57, 215.344, -7.505, 180.126, 63.08, 39.51, 208.913, 48.561]

**Tulos**

98.302

**Esimerkki 0.2231**

[21.65, 127.948, 174.722, -15.143, 223.442, 210.744, 222.348, 43.325]

**Tulos**

126.13

**Esimerkki 0.2232**

[26.924, 220.006, 83.932]

**Tulos**

110.287

**Esimerkki 0.2233**

[111.463, 49.577, 20.786, -88.836]

**Tulos**

23.248

**Esimerkki 0.2234**

[194.983, -22.961, 95.798, -2.34, 178.547, -90.942, 122.52, 109.389]

**Tulos**

73.124

**Esimerkki 0,2235**

[92.828, 112.104, -88.742]

**Tulos**

38.73

**Esimerkki 0.2236**

[-55.173, 73.832, 219.359, -21.517]

**Tulos**

54.125

**Esimerkki 0.2237**

[178.81, 155.118, 83.979]

**Tulos**

139.302

**Esimerkki 0.2238**

[-85.623, 231.544, 191.775, 27.471, 44.249, 23.857, 116.214]

**Tulos**

78.498

**Esimerkki 0.2239**

[226.287, 114.252, -53.47, 8.606, 234.708, -31.872, 163.615]

**Tulos**

94.589

**Esimerkki 0.2240**

[61.243, 42.555, 154.838]

**Tulos**

86.212

**Esimerkki 0.2241**

[-48.917, 240.011, 168.755]

**Tulos**

119.95

**Esimerkki 0.2242**

[4.256, 246.003, 222.298, 50.991]

**Tulos**

130.887

**Esimerkki 0.2243**

[-65.775, 120.875, 106.815, 185.984, 53.595, 218.573, 215.903, -42.121]

**Tulos**

99.231

**Esimerkki 0.2244**

[117.882, -11.519, 138.961, -24.782, 12.95, -61.589, 240.254, 206.05, 105.082, 94.733]

**Tulos**

81.802

**Esimerkki 0.2245**

[31.144, 125.262, 172.518, 35.668, -89.2, 68.261, -53.655]

**Tulos**

41.428

**Esimerkki 0.2246**

[-0.47, 201.362, 30.206, 60.602, 24.415, 45.176, -17.683]

**Tulos**

49.087

**Esimerkki 0.2247**

[140.203, -92.781, -58.882, 157.543, 67.852]

**Tulos**

42.787

**Esimerkki 0.2248**

[16.451, -82.984, 49.262, 174.81, 216.979, 210.084, 4.893]

**Tulos**

84.214

**Esimerkki 0.2249**

[47.085, -20.927, -10.587, 232.022, 155.57, 226.624, 128.252, 116.545, -92.461]

**Tulos**

86.903

**Esimerkki 0,2250**

[208.872, 59.574, 135.88, 152.251, -54.975, 116.537, 67.641]

**Tulos**

97.969

**Esimerkki 0.2251**

[231.56, 85.74, -6.379, 177.179, -40.191, 150.634, -3.38, 6.346]

**Tulos**

75.189

**Esimerkki 0.2252**

[155.26, -63.836, -27.201]

**Tulos**

21.408

**Esimerkki 0.2253**

[152.826, 128.15, 58.05, 117.052, 18.302, 0.717]

**Tulos**

79.183

**Esimerkki 0.2254**

[111.771, 111.326]

**Tulos**

111.548

**Esimerkki 0.2255**

[139.326, 10.384, -67.466, 246.644, 122.032, -63.536, -26.562, -64.305]

**Tulos**

37.065

**Esimerkki 0.2256**

[120.273, 167.593, 113.918, 168.133, 138.341, 146.266, 152.463, 57.804]

**Tulos**

133.099

**Esimerkki 0.2257**

[-88.305, 160.137]

**Tulos**

35.916

**Esimerkki 0.2258**

[131.89, -66.422, 223.844, 140.762, -80.535, 139.088, 185.524, 152.854]

**Tulos**

103.376

**Esimerkki 0.2259**

[167.257, 45.452]

**Tulos**

106.354

**Esimerkki 0,2260**

[236.753, 184.794, -45.415, 20.278, -41.34, 109.146, 176.83]

**Tulos**

91.578

**Esimerkki 0.2261**

[226.144, 241.54]

**Tulos**

233.842

**Esimerkki 0.2262**

[248.292, 67.345, -97.861, 199.103]

**Tulos**

104.22

**Esimerkki 0.2263**

[130.596, -14.297, 50.727, 228.942, 235.096]

**Tulos**

126.213

**Esimerkki 0.2264**

[-73.587, -24.893, -19.975, 173.446, 84.139, 5.045]

**Tulos**

24.029

**Esimerkki 0,2265**

[126.026, -59.263, -0.935, 202.244, 116.237, 138.945, -10.301, 160.38]

**Tulos**

84.167

**Esimerkki 0.2266**

[-75.699, -32.585]

**Tulos**

-54.142

**Esimerkki 0.2267**

[43.535, 176.721, 201.185, 157.759, 36.826]

**Tulos**

123.205

**Esimerkki 0.2268**

[-73.046, -83.771, 1.957, 166.243, 138.615, 162.735, 26.753, 216.297, -95.073, -77.454]

**Tulos**

38.326

**Esimerkki 0.2269**

[91.125, -49.353, -4.982, -25.955, 48.882, 132.75, 67.699]

**Tulos**

37.167

**Esimerkki 0.2270**

[128.152, 95.16, 70.113, -16.853]

**Tulos**

69.143

**Esimerkki 0.2271**

[190.331, 168.545, -41.29, 0.942, 247.518, -41.747]

**Tulos**

87.383

**Esimerkki 0.2272**

[143.698, 132.393]

**Tulos**

138.046

**Esimerkki 0.2273**

[127.065, 246.035, 223.226, 25.124, 94.771, 208.799, -5.226, -33.367, 89.277]

**Tulos**

108.412

**Esimerkki 0.2274**

[191.126, 107.746, 5.021, 132.63, 8.225]

**Tulos**

88.95

**Esimerkki 0,2275**

[-37.876, 206.008, 81.824, 205.696, -31.94, 165.356]

**Tulos**

98.178

**Esimerkki 0.2276**

[175.27, -60.238, 168.766, -97.844, 114.822, -71.094, 153.536, 183.657]

**Tulos**

70.859

**Esimerkki 0.2277**

[176.928, 146.579, 134.498, 146.776]

**Tulos**

151.195

**Esimerkki 0.2278**

[195.111, 138.234, 84.813, 181.552, -34.974, -67.378, -0.833, 1.359, -37.444, 114.215]

**Tulos**

57.466

**Esimerkki 0.2279**

[-3.91, 22.742, 46.288, -49.853, 149.36, 175.956, 225.821, -17.566, -56.963]

**Tulos**

54.653

**Esimerkki 0.2280**

[19.66, 77.859, -40.301, 103.668, 88.788, 77.935, 157.158, 187.661]

**Tulos**

84.054

**Esimerkki 0.2281**

[208.754, 99.767, 44.663, -90.502, 8.27, 82.216, -22.635, 16.237, 65.406, 205.207]

**Tulos**

61.738

**Esimerkki 0.2282**

[73.813, -73.579, 234.134, -34.366]

**Tulos**

50.0

**Esimerkki 0.2283**

[-2.968, 217.019, 55.0, -40.467, -2.835, -43.755, 5.173]

**Tulos**

26.738

**Esimerkki 0.2284**

[-12.787, -46.359, -25.755, -36.59, 127.793, 150.091, 221.954, 78.029]

**Tulos**

57.047

**Esimerkki 0,2285**

[108.88, 136.2, 141.894, -76.072, -27.471]

**Tulos**

56.686

**Esimerkki 0.2286**

[193.75, 123.39, 187.81, 192.139, 123.005]

**Tulos**

164.019

**Esimerkki 0.2287**

[-45.494, 241.706, 175.237, 198.516, 80.373]

**Tulos**

130.068

**Esimerkki 0.2288**

[-16.878, -94.397, -58.691, 131.743, 218.247, 140.732, 133.169, -30.788, 42.957]

**Tulos**

51.788

**Esimerkki 0.2289**

[-49.246, -51.453, -22.548, 204.834, 87.783, 116.318, 239.339, -26.778, 114.626, 148.164]

**Tulos**

76.104

**Esimerkki 0.2290**

[240.476, -6.143, 41.657]

**Tulos**

91.997

**Esimerkki 0.2291**

[65.697, -66.629, -85.477, 153.044]

**Tulos**

16.659

**Esimerkki 0.2292**

[65.727, 216.759, 101.145, 91.028]

**Tulos**

118.665

**Esimerkki 0.2293**

[127.069, 196.361, 65.203, 181.981, -88.543]

**Tulos**

96.414

**Esimerkki 0.2294**

[-13.319, 89.45, 129.929, 115.408, 216.454]

**Tulos**

107.584

**Esimerkki 0,2295**

[149.954, 109.755, 83.553, -90.026, -6.386, -46.118, 207.425, 29.481]

**Tulos**

54.705

**Esimerkki 0.2296**

[78.678, -33.174, 229.345, 176.337, -36.88]

**Tulos**

82.861

**Esimerkki 0.2297**

[-46.9, -31.957]

**Tulos**

-39.428

**Esimerkki 0.2298**

[220.711, 75.974, -36.001, 122.609, 227.25]

**Tulos**

122.109

**Esimerkki 0.2299**

[9.736, 70.464, 232.675]

**Tulos**

104.292

**Esimerkki 0.2300**

[193.651, -44.063, 48.228, 99.434, 4.309, 128.499, 206.99, 133.295, 57.908, 161.991]

**Tulos**

99.024

**Esimerkki 0.2301**

[126.003, -76.128, -30.337, 74.801, 65.633, 172.839, 187.609, 103.233]

**Tulos**

77.957

**Esimerkki 0.2302**

[231.352, -24.17]

**Tulos**

103.591

**Esimerkki 0.2303**

[159.574, 69.724, -21.198]

**Tulos**

69.367

**Esimerkki 0.2304**

[140.276, -15.335, 193.793, 243.607, 133.838, 83.034, 98.676, 120.333, 89.905, 171.014]

**Tulos**

125.914

**Esimerkki 0,2305**

[171.805, 71.031, 36.192, 28.948, -58.045, 53.843]

**Tulos**

50.629

**Esimerkki 0.2306**

[67.972, 109.188, -11.315, 213.598, 156.515]

**Tulos**

107.192

**Esimerkki 0.2307**

[35.844, 44.846, 32.366]

**Tulos**

37.685

**Esimerkki 0.2308**

[176.192, 162.765, 174.797, 26.078, -2.089]

**Tulos**

107.549

**Esimerkki 0.2309**

[162.026, 108.266]

**Tulos**

135.146

**Esimerkki 0.2310**

[93.433, 149.567, -94.907, 101.22, 60.361]

**Tulos**

61.935

**Esimerkki 0.2311**

[154.973, 236.181, -70.063, -55.475]

**Tulos**

66.404

**Esimerkki 0.2312**

[88.806, -71.43, -61.274, -33.608, 93.919, 2.689, 28.44, 212.039, 182.083, 110.978]

**Tulos**

55.264

**Esimerkki 0.2313**

[210.239, -35.519, 2.9, 217.273, -97.467]

**Tulos**

59.485

**Esimerkki 0.2314**

[1.124, 115.614, 193.522, 5.316, 225.689, 12.964, 81.637, 77.57, 149.36]

**Tulos**

95.866

**Esimerkki 0.2315**

[-75.39, 153.728, -24.068, 186.496, 127.642, 27.701, 178.912, 10.982, -94.437, 35.731]

**Tulos**

52.73

**Esimerkki 0.2316**

[153.298, -53.776, 85.23, 13.852]

**Tulos**

49.651

**Esimerkki 0.2317**

[185.001, 38.365]

**Tulos**

111.683

**Esimerkki 0.2318**

[237.967, 114.795, 36.104]

**Tulos**

129.622

**Esimerkki 0.2319**

[172.525, 188.016, 154.429]

**Tulos**

171.657

**Esimerkki 0.2320**

[172.686, 46.972, 139.657, -30.122, 126.099, 89.965, 145.669]

**Tulos**

98.704

**Esimerkki 0,2321**

[-29.354, -28.445]

**Tulos**

-28.9

**Esimerkki 0.2322**

[112.026, 20.03, 73.595, -24.957, 185.718, 36.43, 206.024]

**Tulos**

86.981

**Esimerkki 0.2323**

[220.164, 60.961, -58.509, -16.616, -56.046, 167.183, 82.436, 61.171, 34.153, -6.002]

**Tulos**

48.89

**Esimerkki 0.2324**

[40.645, -37.064, 109.341, 78.908, -98.619, 229.569]

**Tulos**

53.797

**Esimerkki 0,2325**

[-47.616, -60.048, 93.139, 189.224, 32.071, -92.293, 209.31, 116.618, 96.418]

**Tulos**

59.647

**Esimerkki 0,2326**

[-77.53, 2.544, 198.154]

**Tulos**

41.056

**Esimerkki 0.2327**

[-38.311, 75.221, 204.64, -15.402, 95.732, 82.957, 108.984]

**Tulos**

73.403

**Esimerkki 0.2328**

[27.504, 49.98, 134.273]

**Tulos**

70.586

**Esimerkki 0.2329**

[-33.253, 187.406, -79.916, 155.251, 8.569, 77.982]

**Tulos**

52.673

**Esimerkki 0,2330**

[-48.46, 216.301, -72.8, 215.53]

**Tulos**

77.643

**Esimerkki 0.2331**

[-47.555, 166.208, 196.763, 138.223, -46.007, 221.61, 141.334]

**Tulos**

110.082

**Esimerkki 0.2332**

[103.885, 191.867, 82.228, 177.708, 136.093, -17.022]

**Tulos**

112.46

**Esimerkki 0.2333**

[23.384, 206.295, 177.386]

**Tulos**

135.688

**Esimerkki 0.2334**

[228.507, 41.014, 196.995, 90.646]

**Tulos**

139.29

**Esimerkki 0,2335**

[3.03, 107.892, 181.606, -95.674, -84.295, 40.666, 59.011, -27.334, 82.859, -86.426]

**Tulos**

18.133

**Esimerkki 0,2336**

[171.465, -31.875]

**Tulos**

69.795

**Esimerkki 0.2337**

[126.021, 179.671, -47.468, 176.927, 243.29, 157.208, 140.121, -36.094, -26.018, 14.231]

**Tulos**

92.789

**Esimerkki 0.2338**

[2.481, 101.204, 232.207, 220.501, 121.383, -32.935, 217.05, 53.524]

**Tulos**

114.427

**Esimerkki 0.2339**

[220.691, 167.709, 136.187, 221.869, -5.898]

**Tulos**

148.112

**Esimerkki 0,2340**

[69.732, 3.589, -26.138, -71.328, 83.115, -37.521, -68.34, 193.613]

**Tulos**

18.34

**Esimerkki 0.2341**

[14.993, 170.321, -5.36, 120.151, -70.197, -22.28, 207.984, 235.405, -27.907, -93.801]

**Tulos**

52.931

**Esimerkki 0.2342**

[155.894, 62.071, 211.995, 155.068, 206.305, 54.907, -92.807, -69.799, 111.639]

**Tulos**

88.364

**Esimerkki 0.2343**

[-95.448, 38.025, 230.71, 84.936, 110.345, 61.64, 173.756]

**Tulos**

86.281

**Esimerkki 0.2344**

[-76.355, 182.337, -7.566, 130.962, 170.278, 132.067, 194.871, 59.557, -59.749, -8.469]

**Tulos**

71.793

**Esimerkki 0,2345**

[100.875, -89.142, 6.114, 113.675, 236.568, 19.203, 205.024]

**Tulos**

84.617

**Esimerkki 0.2346**

[22.811, -95.531, -79.835, 154.93, 172.002, 175.679, 94.874, 112.721]

**Tulos**

69.706

**Esimerkki 0.2347**

[88.044, 85.907, 174.993, 132.463]

**Tulos**

120.352

**Esimerkki 0.2348**

[183.18, 52.536, 147.216]

**Tulos**

127.644

**Esimerkki 0.2349**

[91.686, 36.611]

**Tulos**

64.148

**Esimerkki 0,2350**

[190.304, -77.325, 38.168, -85.085, 123.486, -2.009]

**Tulos**

31.257

**Esimerkki 0.2351**

[203.519, -11.741, 85.426, -45.034, 80.174]

**Tulos**

62.469

**Esimerkki 0.2352**

[15.799, 6.545, 101.018, -76.074, 51.291, -58.732, 131.857, -36.93, 131.423]

**Tulos**

29.577

**Esimerkki 0.2353**

[65.91, 242.833, 134.324, -79.366, 60.488, -68.752]

**Tulos**

59.24

**Esimerkki 0.2354**

[205.128, 198.475, 132.445, -88.455, 2.802, 142.99, 232.583, 58.071]

**Tulos**

110.505

**Esimerkki 0,2355**

[-86.961, -47.951, 143.862, 44.642, 144.616, 187.7, 183.32]

**Tulos**

81.318

**Esimerkki 0.2356**

[95.716, 130.145, 225.949]

**Tulos**

150.603

**Esimerkki 0.2357**

[148.677, 47.763, -94.796, 175.709, -80.683]

**Tulos**

39.334

**Esimerkki 0.2358**

[-78.176, -29.91, 25.823, 46.538, -30.419, 78.498, -50.155, -79.238, -47.249, -5.928]

**Tulos**

-17.022

**Esimerkki 0.2359**

[233.719, 11.512, 159.737, -55.121, 2.157]

**Tulos**

70.401

**Esimerkki 0,2360**

[246.122, 180.086, -2.65, 19.38]

**Tulos**

110.735

**Esimerkki 0.2361**

[212.771, 126.675, -39.096, 238.243, 27.305]

**Tulos**

113.18

**Esimerkki 0.2362**

[-38.597, 140.983, 167.528, 81.287, -5.018, 236.15, 129.309, -39.064, 191.674, -87.769]

**Tulos**

77.648

**Esimerkki 0.2363**

[184.052, 172.283, 30.542, 193.486, -20.178, 186.059, 221.473, 222.066, 15.525]

**Tulos**

133.923

**Esimerkki 0.2364**

[-45.751, 19.247, 171.55, 107.313, 145.286, 150.336, 46.239]

**Tulos**

84.889

**Esimerkki 0,2365**

[126.17, -18.839, 195.35, -89.232, 243.415]

**Tulos**

91.373

**Esimerkki 0.2366**

[-4.328, 141.187]

**Tulos**

68.43

**Esimerkki 0.2367**

[104.363, 54.247, 68.896, 103.333, 202.871, 187.953, 210.963, -54.023]

**Tulos**

109.825

**Esimerkki 0.2368**

[192.422, 126.735, 75.166, -61.665, 58.903, -24.655, -69.407]

**Tulos**

42.5

**Esimerkki 0.2369**

[19.893, 7.992, 71.926, 117.384, -47.437, 82.738, 166.352, 58.523, 181.442, 158.854]

**Tulos**

81.767

**Esimerkki 0,2370**

[-6.055, -15.916, -28.534, 104.283, -85.161, 214.43, 72.449, 192.727, 33.088]

**Tulos**

53.479

**Esimerkki 0.2371**

[147.419, 150.879, -2.288, 131.631]

**Tulos**

106.91

**Esimerkki 0.2372**

[194.927, -64.069, 32.164, 180.576, 164.893, -95.655, 203.533, 165.079, 232.333]

**Tulos**

112.642

**Esimerkki 0.2373**

[118.695, 126.393, 20.738, 213.816, 38.327, 177.717, -80.534, -24.012, 245.774, 58.344]

**Tulos**

89.526

**Esimerkki 0.2374**

[84.556, -81.758, 40.949, 123.938, 210.939, 184.029, 214.385]

**Tulos**

111.005

**Esimerkki 0,2375**

[129.511, 144.875, 123.135, 27.323]

**Tulos**

106.211

**Esimerkki 0.2376**

[134.284, -70.923, 136.75, 32.831, 54.132]

**Tulos**

57.415

**Esimerkki 0,2377**

[79.389, 200.554, 117.958, 187.917, 81.134, 161.246, 52.29, 37.586]

**Tulos**

114.759

**Esimerkki 0,2378**

[46.452, 143.923, -52.893, 205.541, -89.445, 243.088, -11.647, 29.934, 70.663]

**Tulos**

65.068

**Esimerkki 0.2379**

[225.5, 241.277, -75.542, 205.786, 40.919, 55.15]

**Tulos**

115.515

**Esimerkki 0.2380**

[-76.417, 184.497, 170.684, -35.367, 45.159, 207.202, 109.671]

**Tulos**

86.49

**Esimerkki 0.2381**

[-46.676, -68.255, 113.203, -43.339, 134.352, 70.198, 249.627]

**Tulos**

58.444

**Esimerkki 0.2382**

[9.281, 44.789, 159.19, 240.99, -85.827, 173.455, 218.464, 197.377, 78.015]

**Tulos**

115.082

**Esimerkki 0.2383**

[122.811, -3.404, 183.502, 88.211, -5.596, -7.52, 174.924, -76.952]

**Tulos**

59.497

**Esimerkki 0.2384**

[173.331, -10.231, 27.412, 150.898, -77.445, 109.852, -94.513, -88.304]

**Tulos**

23.875

**Esimerkki 0,2385**

[29.816, 192.957, -93.778, 52.077, -91.487, 13.531, 102.884]

**Tulos**

29.429

**Esimerkki 0.2386**

[50.051, -76.163, 45.703, -14.497, 25.873]

**Tulos**

6.193

**Esimerkki 0.2387**

[127.703, -82.203, 53.438]

**Tulos**

32.979

**Esimerkki 0,2388**

[129.648, 179.865, 54.885]

**Tulos**

121.466

**Esimerkki 0.2389**

[-93.831, 106.406, 109.694, 249.781, -70.827]

**Tulos**

60.245

**Esimerkki 0,2390**

[3.402, 123.403, 155.401, 193.566, 12.549, 194.144, 77.964, 65.128, 37.553, -73.981]

**Tulos**

78.913

**Esimerkki 0.2391**

[-1.1, 165.395, -38.244, 86.12, -73.989, 148.672, -9.01]

**Tulos**

39.692

**Esimerkki 0.2392**

[-50.947, -88.879]

**Tulos**

-69.913

**Esimerkki 0,2393**

[-32.147, 69.278]

**Tulos**

18.566

**Esimerkki 0,2394**

[238.269, 89.154, 228.831, 110.529]

**Tulos**

166.696

**Esimerkki 0,2395**

[199.168, -13.333, 11.955, 127.827, 101.541, -23.333, 170.279, 29.964, -94.554, 158.28]

**Tulos**

66.779

**Esimerkki 0,2396**

[-67.466, 148.217, 90.861, 65.54, -82.837, 38.928, -22.938, 135.484]

**Tulos**

38.224

**Esimerkki 0,2397**

[6.117, 4.736, 237.315, 141.33, 160.713]

**Tulos**

110.042

**Esimerkki 0.2398**

[-75.664, 192.225, 2.107, -86.22, -51.11]

**Tulos**

-3.732

**Esimerkki 0.2399**

[168.044, 195.1, 119.207, 152.831, -14.686, 240.141]

**Tulos**

143.439

**Esimerkki 0,2400**

[43.897, 142.481, 57.194, 233.621]

**Tulos**

119.298

**Esimerkki 0.2401**

[187.54, -56.697, 55.301, 235.071, 176.682, 103.554, -35.29, 84.215]

**Tulos**

93.797

**Esimerkki 0.2402**

[23.632, 47.911, 95.884, 239.46, -68.225, 80.094, 111.959]

**Tulos**

75.816

**Esimerkki 0.2403**

[1.665, 197.654, 208.646, 43.21]

**Tulos**

112.794

**Esimerkki 0.2404**

[83.713, 235.706, 107.712, 94.574, -87.051, 129.245, 128.053]

**Tulos**

98.85

**Esimerkki 0.2405**

[172.084, 126.948, 90.757]

**Tulos**

129.93

**Esimerkki 0.2406**

[147.735, -57.013, 16.463, 10.407, 63.145, 3.314, 76.049, 220.801, 100.897]

**Tulos**

64.644

**Esimerkki 0.2407**

[-17.178, 166.895, 74.636, 58.365, 198.626, 99.851, 170.171, 144.341, 204.63, 121.716]

**Tulos**

122.205

**Esimerkki 0.2408**

[112.53, -67.079, 177.313, 230.482, 57.316, -37.564]

**Tulos**

78.833

**Esimerkki 0.2409**

[80.346, 228.37, 18.978, -42.02]

**Tulos**

71.419

**Esimerkki 0.2410**

[121.276, 162.342, -25.015, 13.959, 210.395, 241.291]

**Tulos**

120.708

**Esimerkki 0.2411**

[3.823, 136.76, 128.616]

**Tulos**

89.733

**Esimerkki 0.2412**

[166.723, 224.959, 90.835, 107.749, 46.549, -25.061, -93.156, -67.229, -76.888]

**Tulos**

41.609

**Esimerkki 0.2413**

[33.767, 183.607, 248.907, -59.363, 224.984, 201.789]

**Tulos**

138.948

**Esimerkki 0.2414**

[79.713, 68.053, 69.582, -96.8, 113.061, -47.435, -18.727, -38.251, 173.616, -46.661]

**Tulos**

25.615

**Esimerkki 0.2415**

[158.725, 80.569, 50.952, -28.303, 65.35, 28.745, 30.631, 30.732]

**Tulos**

52.175

**Esimerkki 0.2416**

[71.656, 66.033, 77.774, -95.615]

**Tulos**

29.962

**Esimerkki 0.2417**

[-89.318, 247.959, 25.441, -92.763, 172.246, -57.286, 181.58]

**Tulos**

55.408

**Esimerkki 0.2418**

[-20.764, 159.3, 157.026, 26.303, 61.888, 148.158, -3.324]

**Tulos**

75.512

**Esimerkki 0.2419**

[115.312, 165.47, 247.989, -43.103, 132.924, 124.421, 175.521, 7.047, -7.973, 88.174]

**Tulos**

100.578

**Esimerkki 0,2420**

[-2.956, -44.811, 131.525, 205.987, 29.985, -59.025, 36.716, 111.992, -51.924, 112.036]

**Tulos**

46.952

**Esimerkki 0,2421**

[213.798, -12.679, -97.425]

**Tulos**

34.565

**Esimerkki 0.2422**

[-5.862, -15.045, 226.755, 183.685, 145.261, -38.91, -1.656, 110.068]

**Tulos**

75.537

**Esimerkki 0.2423**

[-73.228, 3.718]

**Tulos**

-34.755

**Esimerkki 0,2424**

[21.298, 170.929, 134.732, 160.877, -16.716, 186.066, 128.345, 14.746, 40.859]

**Tulos**

93.46

**Esimerkki 0,2425**

[35.329, -23.551, -90.367, 226.117, 170.26, 6.137]

**Tulos**

53.988

**Esimerkki 0,2426**

[72.78, -56.673, -49.957, -84.089]

**Tulos**

-29.485

**Esimerkki 0.2427**

[167.292, 188.961, 203.661, 86.355, 217.931, -27.422]

**Tulos**

139.463

**Esimerkki 0,2428**

[241.451, 8.361, -86.633, -76.073]

**Tulos**

21.776

**Esimerkki 0.2429**

[194.829, 171.604, 202.915, 181.243, 32.746, 103.499, 121.571, 20.791, 87.944, -60.637]

**Tulos**

105.65

**Esimerkki 0,2430**

[40.296, 126.503, 45.425, 64.31, 40.591, 3.785]

**Tulos**

53.485

**Esimerkki 0,2431**

[146.762, 149.536, 42.391, -64.743]

**Tulos**

68.486

**Esimerkki 0,2432**

[52.696, 230.416, 89.385, 227.188, -81.137, 239.638, 64.455, -84.734, -73.041]

**Tulos**

73.874

**Esimerkki 0,2433**

[-47.462, 69.283, 176.536, -64.153, 144.242]

**Tulos**

55.689

**Esimerkki 0,2434**

[168.083, -98.924, 92.038, 175.563, 107.537, -52.999, 113.841, -92.457, 145.357]

**Tulos**

62.004

**Esimerkki 0,2435**

[16.426, 100.384, 116.375, -85.793, 156.604, -61.217, 203.053, -97.468, -18.549]

**Tulos**

36.646

**Esimerkki 0,2436**

[102.313, 175.9, 188.484, 87.534, -98.034, -72.871]

**Tulos**

63.888

**Esimerkki 0.2437**

[20.538, 100.835, -23.197, 207.707, -12.758, 152.97, 190.404]

**Tulos**

90.928

**Esimerkki 0,2438**

[-98.71, 60.583, 13.907, 232.317, -34.461, 71.265, 35.162, 23.503]

**Tulos**

37.946

**Esimerkki 0.2439**

[100.422, 199.731, 138.971, 95.515, 9.517]

**Tulos**

108.831

**Esimerkki 0,2440**

[8.919, 109.327, -10.073, -95.031, -17.822, 51.269]

**Tulos**

7.765

**Esimerkki 0.2441**

[65.996, -85.885, 34.395, 55.128, 216.067, -4.933, -30.061, -57.437, 142.772]

**Tulos**

37.338

**Esimerkki 0.2442**

[194.281, 62.473]

**Tulos**

128.377

**Esimerkki 0.2443**

[18.274, 29.409, 247.641, 209.428, 135.158, 44.039, 227.479, 117.44, 114.637]

**Tulos**

127.056

**Esimerkki 0.2444**

[126.317, 233.387, 122.748]

**Tulos**

160.817

**Esimerkki 0,2445**

[-61.921, -27.056, 49.121, -13.842, -24.863, -16.545, 64.789, 61.42, 249.595, -96.877]

**Tulos**

18.382

**Esimerkki 0.2446**

[-37.399, -99.767, 226.415, 56.179]

**Tulos**

36.357

**Esimerkki 0.2447**

[158.787, 159.947, 57.37, 138.776, 215.233, 82.571, -69.464]

**Tulos**

106.174

**Esimerkki 0.2448**

[167.582, 89.691, -67.166, 95.805, 229.748, 160.965]

**Tulos**

112.771

**Esimerkki 0.2449**

[152.996, 172.675, -3.984, 177.508, 216.001, 233.337, -12.262, -8.807, -27.538]

**Tulos**

99.992

**Esimerkki 0,2450**

[-6.572, 60.286, 204.525, 109.51, 50.343, 98.754, -78.764, -79.969, 245.927, 86.753]

**Tulos**

69.079

**Esimerkki 0.2451**

[114.303, 16.41, -39.174, 190.105, 242.352, -10.982, 70.776, 166.037]

**Tulos**

93.728

**Esimerkki 0.2452**

[243.175, 110.629]

**Tulos**

176.902

**Esimerkki 0.2453**

[-46.113, 125.487, 133.801, 230.957, 217.606, 147.203, -27.73, 66.455, -96.494]

**Tulos**

83.464

**Esimerkki 0.2454**

[144.186, 111.502, 209.899, -66.28, 92.01, 134.181, -96.324, 69.264, 181.687]

**Tulos**

86.681

**Esimerkki 0,2455**

[-12.925, -96.384, 21.438, -45.194]

**Tulos**

-33.266

**Esimerkki 0.2456**

[73.139, 68.907, -20.514, 159.682, 225.027, 169.52]

**Tulos**

112.627

**Esimerkki 0.2457**

[152.42, -48.983, 32.999, 147.185, -58.145, 65.985, 15.968, -53.935, -82.639]

**Tulos**

18.984

**Esimerkki 0.2458**

[-90.293, 29.812]

**Tulos**

-30.241

**Esimerkki 0.2459**

[-22.869, -2.429, 231.949, -84.216, -45.074, 9.195]

**Tulos**

14.426

**Esimerkki 0,2460**

[29.807, 81.304, 61.195]

**Tulos**

57.435

**Esimerkki 0.2461**

[118.234, 117.961, 187.863, 135.624]

**Tulos**

139.92

**Esimerkki 0.2462**

[-97.137, 210.145, 36.372, 65.886, -6.845, 108.533, 231.138, 113.102]

**Tulos**

82.649

**Esimerkki 0.2463**

[72.946, 167.171]

**Tulos**

120.058

**Esimerkki 0,2464**

[181.007, -78.145, 199.126, 184.873, -33.397]

**Tulos**

90.693

**Esimerkki 0,2465**

[-34.613, 117.648]

**Tulos**

41.518

**Esimerkki 0,2466**

[123.076, -38.11, -13.89]

**Tulos**

23.692

**Esimerkki 0.2467**

[-38.265, 153.05, 57.987, 121.07, 212.804, -70.335, 234.799, 174.937, -75.684, 28.975]

**Tulos**

79.934

**Esimerkki 0.2468**

[112.141, 221.013, 75.929, -19.73, 151.257]

**Tulos**

108.122

**Esimerkki 0.2469**

[123.737, 191.8, -35.811, -96.064, 134.015, 88.977, -81.142, 190.137]

**Tulos**

64.456

**Esimerkki 0,2470**

[15.997, 98.911, 109.014]

**Tulos**

74.641

**Esimerkki 0.2471**

[132.008, -28.11, -90.573, 196.93, 26.971]

**Tulos**

47.445

**Esimerkki 0.2472**

[125.983, 50.051, 76.042, 70.85, -94.364, 45.332, -86.592, 204.281, -41.322]

**Tulos**

38.918

**Esimerkki 0.2473**

[100.718, 96.182, 224.086, 92.569, -13.541, 227.59, 129.781, -43.383, 1.262]

**Tulos**

90.585

**Esimerkki 0.2474**

[120.84, 161.262, 125.865, -57.181, 232.209]

**Tulos**

116.599

**Esimerkki 0,2475**

[82.854, 99.798, 116.907, 225.825, 14.017, -5.699]

**Tulos**

88.95

**Esimerkki 0.2476**

[105.122, 242.267, 3.267, 167.525, 22.097, 80.915, 202.126, -36.423, 85.648, 204.794]

**Tulos**

107.734

**Esimerkki 0.2477**

[-36.318, 176.066, 36.435, 132.732, -15.887, -24.851, 169.963, -98.796, 38.818]

**Tulos**

42.018

**Esimerkki 0.2478**

[-44.64, -21.669, -31.304, 55.313, 147.351, 211.169, 108.435]

**Tulos**

60.665

**Esimerkki 0.2479**

[2.712, 102.631, 14.071, 89.237, 62.503]

**Tulos**

54.231

**Esimerkki 0.2480**

[7.098, -94.835, 117.065, 231.573, 235.083, 42.018, 121.608, -5.856, 203.0]

**Tulos**

95.195

**Esimerkki 0.2481**

[129.886, 82.523, -97.826, 48.731, -42.834, 79.604, 16.917, -68.982]

**Tulos**

18.502

**Esimerkki 0.2482**

[119.44, -41.637, 49.67, 81.639, 146.767]

**Tulos**

71.176

**Esimerkki 0.2483**

[19.988, 41.712, -73.64, 121.088, 210.071, 220.448, 131.894, 53.952, 89.133]

**Tulos**

90.516

**Esimerkki 0.2484**

[243.585, 203.853, 7.816, 21.195, -27.97, 109.477, 167.261, 170.464]

**Tulos**

111.96

**Esimerkki 0,2485**

[95.725, 112.04, 231.963]

**Tulos**

146.576

**Esimerkki 0.2486**

[227.386, 129.545, -70.317, 65.991, 172.147]

**Tulos**

104.95

**Esimerkki 0.2487**

[179.929, 180.162, -63.896, -56.366, 233.638]

**Tulos**

94.693

**Esimerkki 0,2488**

[45.506, -33.122, 18.711, 179.636, -25.098]

**Tulos**

37.127

**Esimerkki 0.2489**

[90.768, -21.39, 95.062, 199.045, 189.228, 47.509]

**Tulos**

100.037

**Esimerkki 0,2490**

[-10.548, 235.372, 62.362, 58.911, 83.851, 148.513, -94.587, -50.571, 117.327, 61.933]

**Tulos**

61.256

**Esimerkki 0.2491**

[8.497, -25.504, -73.589]

**Tulos**

-30.199

**Esimerkki 0.2492**

[-74.732, 85.225, 17.913, -35.834, 12.561, -23.102, 167.348, 199.993, 168.679, 231.692]

**Tulos**

74.974

**Esimerkki 0.2493**

[118.783, 191.64, 225.792, 160.903, 209.763, 39.225, 24.607]

**Tulos**

138.673

**Esimerkki 0,2494**

[34.481, 76.374, 1.63, 129.511, 162.059, 199.306, 1.295, 93.993]

**Tulos**

87.331

**Esimerkki 0,2495**

[193.817, 78.977, 76.476, 149.415, -83.27, -36.422, 47.619, 146.155, -45.545, 198.086]

**Tulos**

72.531

**Esimerkki 0,2496**

[139.189, 203.6, -73.929, 199.95, 169.889, 22.466]

**Tulos**

110.194

**Esimerkki 0,2497**

[3.323, 223.97, 242.737, 82.121, 27.648, 94.639, -33.193, 3.522, -50.421]

**Tulos**

66.038

**Esimerkki 0.2498**

[-44.404, -14.798, 83.065, -30.047]

**Tulos**

-1.546

**Esimerkki 0.2499**

[-15.843, 236.17, -79.922, -29.879]

**Tulos**

27.632

**Esimerkki 0.2500**

[173.023, 189.373, 23.963]

**Tulos**

128.786

**Esimerkki 0.2501**

[181.002, 237.287]

**Tulos**

209.144

**Esimerkki 0.2502**

[25.838, -12.098, 17.751, -17.256, -93.799]

**Tulos**

-15.913

**Esimerkki 0.2503**

[103.118, 90.25, 4.835]

**Tulos**

66.068

**Esimerkki 0.2504**

[34.054, 236.194, 98.027, 114.677, -31.452, -11.691, 9.946, 233.828, 226.085, 220.98]

**Tulos**

113.065

**Esimerkki 0,2505**

[60.37, 154.572, 207.762, 220.028, 56.028, -21.661]

**Tulos**

112.85

**Esimerkki 0.2506**

[137.406, 41.059, -11.091, 34.113, 193.319, 111.42, 36.348, 39.746, 204.726, -42.921]

**Tulos**

74.412

**Esimerkki 0.2507**

[69.939, -72.602, 60.681, -61.555]

**Tulos**

-0.884

**Esimerkki 0.2508**

[39.279, 177.085, 6.468, -68.78, -5.472, -0.806, 235.722, 7.402]

**Tulos**

48.862

**Esimerkki 0.2509**

[-23.489, 230.001, -90.092, -49.689, 12.449, 187.723, 37.348, -90.419, -77.106]

**Tulos**

15.192

**Esimerkki 0,2510**

[149.965, 134.053, -8.159, 112.116, 197.979, -74.207, 9.947]

**Tulos**

74.528

**Esimerkki 0,2511**

[-98.078, 1.658, 117.219, -29.015, 204.611, 140.073, 4.792, -10.659]

**Tulos**

41.325

**Esimerkki 0.2512**

[181.04, 134.761, 98.01, 16.186, 203.134, 184.017, -11.892]

**Tulos**

115.037

**Esimerkki 0,2513**

[91.226, -90.437, 147.921]

**Tulos**

49.57

**Esimerkki 0,2514**

[-0.077, 19.823]

**Tulos**

9.873

**Esimerkki 0,2515**

[69.992, 83.662, 67.177, 95.241, 232.358, 165.146, 147.904]

**Tulos**

123.069

**Esimerkki 0,2516**

[64.335, 28.487, -30.111, 27.504, -89.491, 90.659, -87.202]

**Tulos**

0.597

**Esimerkki 0,2517**

[174.098, 19.358, -71.29, 39.0, 202.134, 107.618, 197.578, 14.008, 211.584, -24.934]

**Tulos**

86.915

**Esimerkki 0,2518**

[86.941, -5.064]

**Tulos**

40.939

**Esimerkki 0.2519**

[190.161, 195.476, -94.868, 118.668, -0.53, -61.893, -87.706, 203.952]

**Tulos**

57.908

**Esimerkki 0,2520**

[129.919, 200.349, 156.629]

**Tulos**

162.299

**Esimerkki 0,2521**

[-76.461, 89.15, 43.51, 226.275]

**Tulos**

70.618

**Esimerkki 0,2522**

[53.166, 101.861]

**Tulos**

77.514

**Esimerkki 0,2523**

[16.517, -18.972, 7.067, 182.105, 4.053, 142.889, 236.815, 69.223, 67.278, -11.919]

**Tulos**

69.506

**Esimerkki 0,2524**

[212.606, -71.711, 109.454]

**Tulos**

83.45

**Esimerkki 0,2525**

[0.992, 249.425, 188.692]

**Tulos**

146.37

**Esimerkki 0,2526**

[148.383, 51.114, -14.07, 246.557, 231.575, -75.815, 180.515, 158.734, 57.834, 197.967]

**Tulos**

118.279

**Esimerkki 0,2527**

[123.309, 136.445, -83.564, 50.477, 140.754, -53.693, 175.065, 191.215, 0.704]

**Tulos**

75.635

**Esimerkki 0,2528**

[-72.378, 35.575, -67.117, 246.868]

**Tulos**

35.737

**Esimerkki 0,2529**

[169.216, -64.607, -82.083, 199.662, 35.641, 63.646, 148.436, 210.344, 13.78, 185.205]

**Tulos**

87.924

**Esimerkki 0,2530**

[221.16, 7.793, -87.663, 147.544, 200.146, 38.413]

**Tulos**

87.899

**Esimerkki 0,2531**

[59.251, 198.593]

**Tulos**

128.922

**Esimerkki 0,2532**

[162.999, -60.454, 163.656, -99.591, -15.11, 216.178, 166.981, 194.967, 5.164]

**Tulos**

81.643

**Esimerkki 0,2533**

[231.488, 15.577, -96.577]

**Tulos**

50.163

**Esimerkki 0,2534**

[147.664, 167.561, 244.106, -42.988, 9.425, 79.806, 239.58]

**Tulos**

120.736

**Esimerkki 0,2535**

[56.782, 188.37, 93.589]

**Tulos**

112.914

**Esimerkki 0,2536**

[11.574, 125.196, -0.087, 150.977, 142.293, 146.135, 19.524, 169.874, 163.098, -51.309]

**Tulos**

87.728

**Esimerkki 0,2537**

[23.412, 178.154, -91.981, -66.234]

**Tulos**

10.838

**Esimerkki 0,2538**

[-57.293, 70.788, -74.892, 231.579]

**Tulos**

42.546

**Esimerkki 0,2539**

[-73.746, -57.239]

**Tulos**

-65.492

**Esimerkki 0,2540**

[172.024, 55.342, 235.08, 158.901, -89.239]

**Tulos**

106.422

**Esimerkki 0,2541**

[-82.456, 123.519, 249.576, -62.202, 175.773, -56.701, -43.633, 117.971, -5.26, 106.268]

**Tulos**

52.286

**Esimerkki 0,2542**

[147.015, 188.149, 113.67, -47.563, -56.101, -60.749, 227.499, 56.597]

**Tulos**

71.065

**Esimerkki 0,2543**

[6.44, 231.265, -75.351, 113.021, 80.941, 204.842, 64.263, -52.189]

**Tulos**

71.654

**Esimerkki 0,2544**

[33.19, 186.078, 118.231, 102.095, 99.666, 183.622]

**Tulos**

120.48

**Esimerkki 0,2545**

[240.245, 232.152, -0.333]

**Tulos**

157.355

**Esimerkki 0.2546**

[246.667, 89.856, 246.847, 179.58, -56.263, -10.051, -26.273, -75.978]

**Tulos**

74.298

**Esimerkki 0,2547**

[146.186, -30.728, 46.688, 147.31, 24.674, 53.197]

**Tulos**

64.555

**Esimerkki 0,2548**

[-81.562, -32.863, 168.227, -15.961, 5.955, 195.609, 222.458, 65.602, -27.724, -85.043]

**Tulos**

41.47

**Esimerkki 0,2549**

[163.378, 63.843, 54.946, -61.486, 218.634, 129.505, 16.536]

**Tulos**

83.622

**Esimerkki 0,2550**

[154.587, 123.531]

**Tulos**

139.059

**Esimerkki 0.2551**

[230.075, 152.69, 98.402, 34.702, 135.723, -4.901, 80.339]

**Tulos**

103.861

**Esimerkki 0.2552**

[24.033, -64.753, -34.067, 184.957, 137.399, -94.547, 107.591, -78.624, 11.58, 64.935]

**Tulos**

25.85

**Esimerkki 0.2553**

[50.509, -86.99, 195.287, -94.237, -88.852, 159.071, 62.31, 236.829, 166.143]

**Tulos**

66.674

**Esimerkki 0.2554**

[79.016, 157.142, -57.985, 210.295, 133.323, 100.855, -40.084]

**Tulos**

83.223

**Esimerkki 0.2555**

[125.67, 5.514, 161.93, 107.05, 118.949, 233.815, 230.211]

**Tulos**

140.448

**Esimerkki 0.2556**

[72.76, 55.649, 50.184, 158.286, 21.33, 107.318, 120.646, 12.147]

**Tulos**

74.79

**Esimerkki 0.2557**

[-6.743, 139.794]

**Tulos**

66.526

**Esimerkki 0.2558**

[-49.575, 95.035]

**Tulos**

22.73

**Esimerkki 0.2559**

[-29.693, 218.483, 91.889, 219.68, 109.158, -68.877, 221.54, 245.156, -20.18, 80.054]

**Tulos**

106.721

**Esimerkki 0,2560**

[108.104, 248.572, 196.839]

**Tulos**

184.505

**Esimerkki 0.2561**

[169.187, -70.87, -42.667, 32.827]

**Tulos**

22.119

**Esimerkki 0.2562**

[230.375, -45.327, 112.137, 109.305]

**Tulos**

101.622

**Esimerkki 0.2563**

[15.393, 241.112, -37.085, 72.85, -14.157, 77.763, -4.316, 223.701, -87.316]

**Tulos**

54.216

**Esimerkki 0,2564**

[230.635, -65.674, -79.203, -19.447, -43.36, 113.987]

**Tulos**

22.823

**Esimerkki 0,2565**

[225.995, 32.767, -33.202, 181.376, 28.519]

**Tulos**

87.091

**Esimerkki 0,2566**

[200.518, 131.389, 189.835, 101.882, -92.517, -85.646]

**Tulos**

74.244

**Esimerkki 0,2567**

[1.443, 209.152]

**Tulos**

105.298

**Esimerkki 0,2568**

[25.407, -63.843, -55.341, 4.483, 38.381, 105.326, -94.523]

**Tulos**

-5.73

**Esimerkki 0.2569**

[-68.707, 212.467, 153.116, 81.234, -62.635, -89.076, 58.18, -54.684]

**Tulos**

28.737

**Esimerkki 0,2570**

[212.956, 185.858, 185.03, 95.708, 217.62, 243.52, 192.315, 35.864, -84.186, 93.102]

**Tulos**

137.779

**Esimerkki 0.2571**

[175.192, 122.415, 188.399, 208.089, 215.215, -53.569]

**Tulos**

142.624

**Esimerkki 0.2572**

[-79.08, 77.577, 62.09, 60.486, -49.508, -20.214, 105.395, 201.783, 101.63, -22.429]

**Tulos**

43.773

**Esimerkki 0.2573**

[106.126, -72.213, 36.419, 180.583, 193.634]

**Tulos**

88.91

**Esimerkki 0.2574**

[-62.979, 248.63, 30.923, -50.368, 111.189, 91.564, 218.971, 249.551]

**Tulos**

104.685

**Esimerkki 0,2575**

[-94.132, 34.256, -10.866]

**Tulos**

-23.581

**Esimerkki 0.2576**

[65.591, -56.104, -28.389, -22.521]

**Tulos**

-10.356

**Esimerkki 0,2577**

[53.969, 35.428, -38.928, -15.972, 214.296, 69.342, 125.925, 8.745, 175.228, 68.531]

**Tulos**

69.656

**Esimerkki 0,2578**

[94.366, -11.479, 104.894, 23.648]

**Tulos**

52.857

**Esimerkki 0.2579**

[112.558, 130.701, -37.95, 168.066]

**Tulos**

93.344

**Esimerkki 0,2580**

[-17.38, 4.946, 217.485]

**Tulos**

68.35

**Esimerkki 0,2581**

[122.737, 189.477, -4.853, 150.031, 126.296, 240.809, 204.743, 29.178]

**Tulos**

132.302

**Esimerkki 0.2582**

[12.931, 164.416, 190.939, 103.735, 74.813]

**Tulos**

109.367

**Esimerkki 0.2583**

[69.721, 116.583, 63.325, -2.991, -54.502, -56.366, 169.392, 172.724, 185.307]

**Tulos**

73.688

**Esimerkki 0.2584**

[49.583, 217.249]

**Tulos**

133.416

**Esimerkki 0,2585**

[177.149, -65.499, -35.027, 40.219, 187.993, 92.916]

**Tulos**

66.292

**Esimerkki 0,2586**

[73.69, 17.53]

**Tulos**

45.61

**Esimerkki 0,2587**

[165.901, 226.337, -51.459, 118.136, 2.079, 66.231, 175.697, -84.018, 51.186, 165.388]

**Tulos**

83.548

**Esimerkki 0,2588**

[97.555, 207.383, 84.292, 186.95, -78.413, 142.159, 32.483]

**Tulos**

96.058

**Esimerkki 0.2589**

[192.228, 208.794, -43.076, 57.256, -55.916, -53.493]

**Tulos**

50.966

**Esimerkki 0,2590**

[110.201, 222.998, 249.974, -57.548, -19.215, 172.88, -29.832, 230.856, 205.181, 1.824]

**Tulos**

108.732

**Esimerkki 0,2591**

[-33.638, 167.312, 61.383, 74.245, 50.682]

**Tulos**

63.997

**Esimerkki 0,2592**

[-96.119, -42.838]

**Tulos**

-69.478

**Esimerkki 0,2593**

[-20.592, -94.79, 193.599, 107.039, 4.945, -19.915, 153.182, 156.633]

**Tulos**

60.013

**Esimerkki 0,2594**

[130.0, 183.57, 56.516, -51.415, 124.571, 48.255]

**Tulos**

81.916

**Esimerkki 0,2595**

[72.011, 86.41, 177.559, 88.373, 52.344, 231.761, 164.181]

**Tulos**

124.663

**Esimerkki 0,2596**

[233.232, -98.555, 86.99, 130.061, 242.125, 224.964, -4.266, 52.033, 155.198]

**Tulos**

113.531

**Esimerkki 0,2597**

[226.192, 40.806, 2.221, 157.658, 135.963]

**Tulos**

112.568

**Esimerkki 0,2598**

[55.529, 36.457, 27.079, -1.475, 164.566]

**Tulos**

56.431

**Esimerkki 0,2599**

[-50.144, 0.802]

**Tulos**

-24.671

**Esimerkki 0.2600**

[197.113, 13.142]

**Tulos**

105.128

**Esimerkki 0.2601**

[143.546, 8.394, 49.352, 236.314, -89.929]

**Tulos**

69.535

**Esimerkki 0.2602**

[96.751, -19.713, 209.611, 175.81, 17.584, 195.179, -39.639, -80.064, 154.148, 176.935]

**Tulos**

88.66

**Esimerkki 0.2603**

[134.971, 140.725, -75.484, 216.085]

**Tulos**

104.074

**Esimerkki 0.2604**

[15.084, 127.71, 178.5, 243.251, -85.93]

**Tulos**

95.723

**Esimerkki 0,2605**

[-74.493, -7.873, 98.435]

**Tulos**

5.356

**Esimerkki 0.2606**

[206.626, 182.093]

**Tulos**

194.36

**Esimerkki 0.2607**

[151.685, 172.203]

**Tulos**

161.944

**Esimerkki 0.2608**

[211.414, -91.196, -56.482, -68.846, -89.05, 219.916, -78.725, 70.517]

**Tulos**

14.693

**Esimerkki 0.2609**

[49.831, 245.863, 226.607, 9.173, 181.411, 120.497, 159.845]

**Tulos**

141.89

**Esimerkki 0.2610**

[-2.577, 195.355, -15.036, 213.694, 165.693, -66.406, -99.812, 55.565, -49.103, 58.171]

**Tulos**

45.554

**Esimerkki 0.2611**

[-41.343, 198.999, 168.784, -43.526, -99.046, 49.309]

**Tulos**

38.863

**Esimerkki 0.2612**

[-66.798, 4.297, 186.76, 234.7, 158.787]

**Tulos**

103.549

**Esimerkki 0.2613**

[-84.53, 28.414, 120.631, 120.232]

**Tulos**

46.187

**Esimerkki 0.2614**

[40.47, 100.394, 192.826, 167.18]

**Tulos**

125.218

**Esimerkki 0.2615**

[25.58, 99.319, 165.429]

**Tulos**

96.776

**Esimerkki 0.2616**

[-18.341, 65.508, 39.034, 14.177, 215.222, 121.43, 0.83, 175.684, 1.246]

**Tulos**

68.31

**Esimerkki 0.2617**

[-21.835, 226.946]

**Tulos**

102.556

**Esimerkki 0.2618**

[22.971, 146.947, 84.327, 123.65, -30.682, -43.973, 211.836, 146.398, -65.992]

**Tulos**

66.165

**Esimerkki 0.2619**

[-33.193, 219.377, -87.676, -15.991, 149.746, 228.558, 94.115, -94.075, -60.86, 0.108]

**Tulos**

40.011

**Esimerkki 0.2620**

[14.122, 177.183, 32.71, -63.278, 96.489]

**Tulos**

51.445

**Esimerkki 0,2621**

[229.418, 94.324, 39.092, 211.928, 220.865, 108.323, 239.486, 18.68, 102.042]

**Tulos**

140.462

**Esimerkki 0.2622**

[126.136, -23.429, -25.125, -32.203, 36.405, 44.406, 147.828, -97.708, -69.793, 235.046]

**Tulos**

34.156

**Esimerkki 0.2623**

[220.219, 123.13, -71.698, 165.801, -14.674, 150.68, 13.431]

**Tulos**

83.841

**Esimerkki 0.2624**

[211.062, 164.38, 33.854, 96.053, -41.146, -87.62, 135.914]

**Tulos**

73.214

**Esimerkki 0,2625**

[215.161, 124.785, 203.26, 121.709, 161.316, 149.034, 108.509, -30.096, -63.199, 30.95]

**Tulos**

102.143

**Esimerkki 0,2626**

[-27.226, -35.521, 101.974, 90.218, 51.874, 67.356]

**Tulos**

41.446

**Esimerkki 0.2627**

[110.254, 50.066, 57.94]

**Tulos**

72.753

**Esimerkki 0.2628**

[-71.88, -65.484, -58.071, 65.985, 220.421, -67.791, 55.046, -59.456]

**Tulos**

2.346

**Esimerkki 0.2629**

[-83.701, 71.935, 243.33, -69.743, 188.782, 158.333, 64.879, 147.785, -71.56, 218.262]

**Tulos**

86.83

**Esimerkki 0.2630**

[-31.233, 68.571, 195.487, 108.423, 212.897]

**Tulos**

110.829

**Esimerkki 0,2631**

[-93.787, 1.986, 134.689, 99.328]

**Tulos**

35.554

**Esimerkki 0,2632**

[62.619, 71.045, -60.895, 50.744, 238.8, 113.238, -35.889, -83.217]

**Tulos**

44.556

**Esimerkki 0,2633**

[89.956, 243.814]

**Tulos**

166.885

**Esimerkki 0,2634**

[22.055, 33.53, 114.153, -38.531, -60.221, -34.133, -85.946, 171.323, 194.445]

**Tulos**

35.186

**Esimerkki 0,2635**

[220.025, 109.071, 12.909, 132.762, 42.491, 209.712, -17.547, 117.388, 0.66]

**Tulos**

91.941

**Esimerkki 0.2636**

[-58.447, 213.433, 187.859, 103.704]

**Tulos**

111.637

**Esimerkki 0.2637**

[-58.012, 129.229, -59.507, 151.245, 192.438, -46.879, -95.171]

**Tulos**

30.478

**Esimerkki 0,2638**

[-49.982, 39.514, 136.487, 210.426, -29.799]

**Tulos**

61.329

**Esimerkki 0.2639**

[-59.459, 238.29, 25.762]

**Tulos**

68.198

**Esimerkki 0,2640**

[-74.006, 221.05, 183.353, 203.998, -55.991, 119.453, 155.004, 151.412]

**Tulos**

113.034

**Esimerkki 0.2641**

[104.213, 211.328, 143.706, 101.168, 188.58]

**Tulos**

149.799

**Esimerkki 0.2642**

[104.371, 82.303, -15.067, 73.603]

**Tulos**

61.302

**Esimerkki 0.2643**

[65.268, -49.952, -59.449, 161.602, 223.231, -87.708, 43.299, 237.731]

**Tulos**

66.753

**Esimerkki 0.2644**

[85.793, 139.002, -48.149, -17.676, 176.457, 148.934, -17.472, 61.563, -89.914]

**Tulos**

48.726

**Esimerkki 0,2645**

[62.999, 156.222, -96.35]

**Tulos**

40.957

**Esimerkki 0.2646**

[-74.608, 60.988, -9.325, 141.676, 54.84]

**Tulos**

34.714

**Esimerkki 0.2647**

[57.646, 246.503, -59.841, -73.295, 213.056, 207.337]

**Tulos**

98.568

**Esimerkki 0.2648**

[27.286, -49.795, -30.643, 30.334, 12.307]

**Tulos**

-2.102

**Esimerkki 0.2649**

[219.587, 202.787]

**Tulos**

211.187

**Esimerkki 0,2650**

[62.228, 221.223, 103.235, -32.414, -17.824, 165.768, 79.827, 163.414]

**Tulos**

93.182

**Esimerkki 0.2651**

[195.105, 219.714, 104.566, 163.792, -37.969, 180.779, 86.241, -26.298]

**Tulos**

110.741

**Esimerkki 0.2652**

[61.915, 139.958, 138.08, 174.984]

**Tulos**

128.734

**Esimerkki 0.2653**

[207.117, 121.279, 23.27, 231.597, -49.636, 28.83, 84.584, -87.796, 19.494]

**Tulos**

64.304

**Esimerkki 0.2654**

[242.8, -51.096, -51.035, 216.928]

**Tulos**

89.399

**Esimerkki 0,2655**

[185.594, 89.215, 19.941, 23.299, 47.251]

**Tulos**

73.06

**Esimerkki 0.2656**

[140.719, 220.491, 119.072]

**Tulos**

160.094

**Esimerkki 0.2657**

[59.062, -28.5, 92.743, 48.297, -26.967]

**Tulos**

28.927

**Esimerkki 0.2658**

[87.797, 75.582, 39.863, -70.561]

**Tulos**

33.17

**Esimerkki 0.2659**

[147.11, 6.136, 38.349, -12.25, 133.293, 108.999, 199.834, 66.233, -76.197, 234.451]

**Tulos**

84.596

**Esimerkki 0,2660**

[170.833, 157.18, 218.014, 137.757, 16.357, -80.304, 140.341]

**Tulos**

108.597

**Esimerkki 0.2661**

[138.55, 148.997]

**Tulos**

143.774

**Esimerkki 0.2662**

[96.422, 173.409, 203.795, 234.155]

**Tulos**

176.945

**Esimerkki 0.2663**

[-41.37, 177.775, -82.325, 169.323, 61.3, -11.437, -49.076, 114.922]

**Tulos**

42.389

**Esimerkki 0,2664**

[220.545, 177.008, -96.446, 74.375, 87.187, 180.373, 0.673]

**Tulos**

91.959

**Esimerkki 0,2665**

[109.74, 169.0, 195.864, -1.043, 51.968, -56.564, 214.711, -78.61, 212.459, 228.74]

**Tulos**

104.626

**Esimerkki 0.2666**

[223.951, 2.518, 140.336, -38.799, 217.497, 212.153, 21.874]

**Tulos**

111.361

**Esimerkki 0.2667**

[4.783, 144.804, -38.816, -15.415, 145.438, -78.709, 219.817, 220.045, -45.29, 50.036]

**Tulos**

60.669

**Esimerkki 0.2668**

[203.458, 25.758, -57.978, 228.875, 180.283, 12.829]

**Tulos**

98.871

**Esimerkki 0.2669**

[88.3, 242.75, 112.146, 58.08, -23.317, 184.063, 243.054]

**Tulos**

129.297

**Esimerkki 0,2670**

[-68.93, 248.597, 64.887, -63.758]

**Tulos**

45.199

**Esimerkki 0,2671**

[234.272, 196.413, -92.425]

**Tulos**

112.753

**Esimerkki 0.2672**

[-87.239, 176.019, -5.769, -11.992, 180.644, -27.711, -85.106, 140.235, 100.673]

**Tulos**

42.195

**Esimerkki 0,2673**

[52.075, -59.106, 40.261, -65.456, 136.403, -96.463, -98.623, 193.043, 93.633]

**Tulos**

21.752

**Esimerkki 0.2674**

[-83.324, 218.716, 30.175, 118.622, -27.614, -95.184, 64.175, 191.032, -42.857, 92.122]

**Tulos**

46.586

**Esimerkki 0,2675**

[12.143, 21.628, 189.093, 206.713, 58.781, 215.809, 155.751, 125.477, 35.335]

**Tulos**

113.414

**Esimerkki 0,2676**

[173.052, -89.677, 156.862, -69.941, 222.397, 62.835, 230.201, 203.191, 43.838]

**Tulos**

103.64

**Esimerkki 0.2677**

[115.65, 106.928, 127.423, 123.474, 74.097, 201.315, 89.505]

**Tulos**

119.77

**Esimerkki 0.2678**

[81.328, 84.447, -15.496, 13.391]

**Tulos**

40.918

**Esimerkki 0.2679**

[63.996, 173.103, 9.333, 165.098, 34.132, 124.734, 229.372, -26.178, -31.59, 112.215]

**Tulos**

85.422

**Esimerkki 0.2680**

[138.47, 162.545, 233.285, 79.557]

**Tulos**

153.464

**Esimerkki 0.2681**

[43.85, -69.445, 10.276, 128.513, -12.443, -67.056, 20.736, 80.301, -37.54, 174.27]

**Tulos**

27.146

**Esimerkki 0.2682**

[-47.651, -62.742]

**Tulos**

-55.196

**Esimerkki 0,2683**

[233.539, 25.136, 83.636, 95.223]

**Tulos**

109.384

**Esimerkki 0.2684**

[188.006, 117.583, 51.262]

**Tulos**

118.95

**Esimerkki 0,2685**

[159.818, -89.589, 152.855, -84.473, 171.06]

**Tulos**

61.934

**Esimerkki 0.2686**

[-30.063, 66.922, 227.536, -67.328, -5.899, 232.831, -39.453]

**Tulos**

54.935

**Esimerkki 0,2687**

[-22.346, 64.021]

**Tulos**

20.838

**Esimerkki 0,2688**

[230.027, -7.05]

**Tulos**

111.488

**Esimerkki 0.2689**

[212.412, 118.16, 54.762, 165.898, -91.805]

**Tulos**

91.885

**Esimerkki 0,2690**

[153.342, 42.035, 41.457, 138.566, -13.464]

**Tulos**

72.387

**Esimerkki 0,2691**

[130.845, -65.556, 50.948, -82.687, 94.72, 1.398, 191.859]

**Tulos**

45.932

**Esimerkki 0,2692**

[-33.746, 231.27, 122.704, -25.907, -56.96]

**Tulos**

47.472

**Esimerkki 0,2693**

[61.713, 142.67, 27.139, 128.056, -90.127, 37.108, 87.502, -91.403, 20.742, 90.148]

**Tulos**

41.355

**Esimerkki 0,2694**

[-41.493, 216.718, 4.353, 164.451, 238.998, 55.396, 236.143, -28.346]

**Tulos**

105.778

**Esimerkki 0,2695**

[58.806, -9.141, -40.07, 197.364, 185.879, 196.209]

**Tulos**

98.175

**Esimerkki 0,2696**

[224.899, 183.278, 62.915, 74.438, 96.145, 181.083, 30.731, -27.485]

**Tulos**

103.25

**Esimerkki 0,2697**

[7.921, 133.659, 197.849, 201.571]

**Tulos**

135.25

**Esimerkki 0.2698**

[217.043, 172.139, 0.164, 207.929, -72.972]

**Tulos**

104.861

**Esimerkki 0.2699**

[-85.394, 191.995, 36.021, -88.24, 30.51, -31.699, 145.824, 245.796, -47.142, 234.563]

**Tulos**

63.223

**Esimerkki 0,2700**

[-71.135, 143.786, 48.316, 146.266, 42.14, 157.235]

**Tulos**

77.768

**Esimerkki 0.2701**

[144.721, 240.842, -61.62, 128.1, 66.188, 74.919, 214.142, 186.413, 215.112]

**Tulos**

134.313

**Esimerkki 0.2702**

[146.682, 155.776, 153.857, 244.301, -67.652, 220.398, 177.769]

**Tulos**

147.304

**Esimerkki 0.2703**

[-33.09, -71.958]

**Tulos**

-52.524

**Esimerkki 0.2704**

[248.021, 18.192, 75.047, 126.246, 125.821, 50.607, 10.831, 120.176]

**Tulos**

96.868

**Esimerkki 0.2705**

[-52.93, 99.318, 163.697, 113.395]

**Tulos**

80.87

**Esimerkki 0.2706**

[-23.861, 51.441, -0.64, 24.881, -45.009]

**Tulos**

1.362

**Esimerkki 0.2707**

[11.014, 180.327, 132.873, 79.311, -63.044, 6.042, 13.948, 218.273, -28.381]

**Tulos**

61.151

**Esimerkki 0.2708**

[176.615, 63.331, 150.648, -99.487, 43.671, 240.534, 110.005, 210.746]

**Tulos**

112.008

**Esimerkki 0.2709**

[-29.191, 141.683, 72.225]

**Tulos**

61.572

**Esimerkki 0,2710**

[-97.879, 78.012, 123.477, 45.76, 180.892, 133.699, -77.9, 231.017]

**Tulos**

77.135

**Esimerkki 0.2711**

[195.859, 108.931, 218.678, 222.393, -99.691, 9.957, -26.693, 213.845, 106.89]

**Tulos**

105.574

**Esimerkki 0.2712**

[-56.355, -68.135, 113.376, 3.683, -39.11, -79.627, -71.223, -10.187, 71.098]

**Tulos**

-15.164

**Esimerkki 0,2713**

[2.927, -48.169, 10.598]

**Tulos**

-11.548

**Esimerkki 0.2714**

[41.702, 234.497, -89.388, 190.012, 139.982, 154.209, -33.875, 102.547, 35.48]

**Tulos**

86.13

**Esimerkki 0,2715**

[245.553, -35.015, -77.126]

**Tulos**

44.471

**Esimerkki 0.2716**

[146.748, -23.736, 49.614]

**Tulos**

57.542

**Esimerkki 0.2717**

[157.423, -98.775, -67.748, 25.759, 24.697, 150.289, -68.457, 212.57, -9.355]

**Tulos**

36.267

**Esimerkki 0.2718**

[159.032, 201.228, 47.28, 67.373, 241.516]

**Tulos**

143.286

**Esimerkki 0.2719**

[170.513, 92.657, -8.474, 126.75, 115.476, 75.692, 249.135, 86.047]

**Tulos**

113.474

**Esimerkki 0,2720**

[141.059, 108.458]

**Tulos**

124.758

**Esimerkki 0,2721**

[122.019, 224.995, 44.344, -79.704]

**Tulos**

77.914

**Esimerkki 0.2722**

[73.817, 126.553, 191.165, 89.223, 91.221, -3.113]

**Tulos**

94.811

**Esimerkki 0.2723**

[154.057, 127.625, -90.321, 78.092, 10.459, 13.407, 16.4, -67.357, -95.83, 136.481]

**Tulos**

28.301

**Esimerkki 0,2724**

[110.775, 30.627, -73.737, -73.723, -20.133, 154.05]

**Tulos**

21.31

**Esimerkki 0,2725**

[203.204, 8.018]

**Tulos**

105.611

**Esimerkki 0,2726**

[143.08, -95.41, 80.605, 177.631, 10.024, -83.45, 107.148, 47.507, 115.672, 100.06]

**Tulos**

60.287

**Esimerkki 0,2727**

[21.924, 166.417, 16.458, 157.637]

**Tulos**

90.609

**Esimerkki 0.2728**

[138.602, 158.458, 241.327, 194.509, 169.45, -56.151]

**Tulos**

141.032

**Esimerkki 0,2729**

[-42.516, 156.163, 91.91, 122.9, 25.302, 65.795, -19.171]

**Tulos**

57.198

**Esimerkki 0,2730**

[-43.529, 109.435, 160.949, 229.41, -36.645, -42.215, 139.786, 17.927, -93.902]

**Tulos**

49.024

**Esimerkki 0,2731**

[245.2, 202.565]

**Tulos**

223.882

**Esimerkki 0,2732**

[106.007, 158.122, 217.652, 78.8, -9.087, 63.342, 6.456]

**Tulos**

88.756

**Esimerkki 0,2733**

[-87.627, 131.087, 142.37, -85.782, -98.177, 243.248, 110.981]

**Tulos**

50.871

**Esimerkki 0,2734**

[196.727, -10.045, 149.394, 143.787, 197.396, 141.845, 63.379, -51.565]

**Tulos**

103.865

**Esimerkki 0,2735**

[62.987, -87.389, 104.017]

**Tulos**

26.538

**Esimerkki 0.2736**

[238.159, 242.655, -38.154, 197.2, 44.152, 186.333, 225.2, 38.874]

**Tulos**

141.802

**Esimerkki 0.2737**

[-6.77, 153.925]

**Tulos**

73.578

**Esimerkki 0,2738**

[231.736, 52.094, -26.175, -9.307, 130.372, -25.494, -72.662, 4.873, -1.681, 139.412]

**Tulos**

42.317

**Esimerkki 0.2739**

[86.995, 225.074]

**Tulos**

156.034

**Esimerkki 0,2740**

[40.891, 9.99, 144.96, 56.832, 10.417, 22.589, -14.631, -14.59]

**Tulos**

32.057

**Esimerkki 0,2741**

[-45.394, 73.925, 195.116, -17.859]

**Tulos**

51.447

**Esimerkki 0,2742**

[152.73, 171.885, 142.634, -92.17, -58.485, 52.649, 111.371, -96.105, -84.707, -78.322]

**Tulos**

22.148

**Esimerkki 0.2743**

[-38.077, -93.848, 8.152]

**Tulos**

-41.258

**Esimerkki 0.2744**

[182.34, 105.105, 248.658, 104.174, -98.917, -47.707, -61.048, 241.903, -34.659, 31.89]

**Tulos**

67.174

**Esimerkki 0,2745**

[216.388, 85.192, -37.618]

**Tulos**

87.987

**Esimerkki 0.2746**

[164.352, -97.553, 16.993, 212.683, -67.211, -48.332, 124.661, -49.122, -99.945]

**Tulos**

17.392

**Esimerkki 0,2747**

[178.031, -52.967, 31.914, 174.681, 155.375, -3.831, 165.333, 10.246, -14.468]

**Tulos**

71.59

**Esimerkki 0.2748**

[14.953, 7.068, 163.091, 242.816, 162.079, 133.882]

**Tulos**

120.648

**Esimerkki 0,2749**

[-51.39, 186.421, -58.942, 54.292, 212.592, 101.924, -57.492]

**Tulos**

55.344

**Esimerkki 0,2750**

[133.924, -36.11, 230.609, 188.37, 68.645]

**Tulos**

117.088

**Esimerkki 0.2751**

[62.856, 50.729, -49.536, -9.706, 9.94, 186.308, 37.126, 96.981, 242.019, 165.145]

**Tulos**

79.186

**Esimerkki 0.2752**

[62.607, 81.072, 52.446]

**Tulos**

65.375

**Esimerkki 0.2753**

[89.53, 164.022, 246.192, -98.857, -61.39, -32.699, 120.685, 121.712]

**Tulos**

68.649

**Esimerkki 0.2754**

[-34.666, -36.597, -53.483]

**Tulos**

-41.582

**Esimerkki 0,2755**

[28.283, -38.113]

**Tulos**

-4.915

**Esimerkki 0.2756**

[-1.02, 165.738, 99.558, 238.915, -65.543, -80.467, -67.754, 176.817, 232.902, 37.136]

**Tulos**

73.628

**Esimerkki 0.2757**

[-93.675, 21.475, -14.654, 150.792, -62.22, 127.352, -50.355, -5.15, 43.103]

**Tulos**

12.963

**Esimerkki 0.2758**

[-60.218, -55.744, 34.902, 46.241, 54.74, 29.511, -93.037]

**Tulos**

-6.229

**Esimerkki 0.2759**

[243.316, -0.7, 185.359, -99.793]

**Tulos**

82.046

**Esimerkki 0,2760**

[86.49, 214.099, -90.546, 63.504, 109.644, 231.927, -7.661, -59.778, 17.036, 92.465]

**Tulos**

65.718

**Esimerkki 0.2761**

[221.211, 113.521, 219.842, -1.664]

**Tulos**

138.228

**Esimerkki 0.2762**

[236.114, -87.789, 89.346, 88.815]

**Tulos**

81.622

**Esimerkki 0.2763**

[103.807, -7.803, 70.934, -62.528, 228.22, 3.808]

**Tulos**

56.073

**Esimerkki 0,2764**

[102.998, 85.82, -81.932, 145.893, 149.875, 243.316, -53.222, 163.536, 44.604]

**Tulos**

88.988

**Esimerkki 0,2765**

[66.037, 30.958, 124.853]

**Tulos**

73.949

**Esimerkki 0,2766**

[-65.716, 132.384, 168.57]

**Tulos**

78.413

**Esimerkki 0,2767**

[-6.982, 76.737, -68.014, 10.433, 229.902, 239.625, 15.505, -58.622, 90.128]

**Tulos**

58.746

**Esimerkki 0,2768**

[190.479, -22.942, 185.373, 132.005, 186.859, -41.484, 206.636, -59.431, -37.651]

**Tulos**

82.205

**Esimerkki 0.2769**

[-27.115, -11.908, 125.703, 202.749, 139.333, 242.982, -93.292, 161.484]

**Tulos**

92.492

**Esimerkki 0,2770**

[-66.771, 179.009]

**Tulos**

56.119

**Esimerkki 0.2771**

[93.989, 98.225, -28.896, 140.887, 46.331, 17.396, 174.394, 40.637]

**Tulos**

72.87

**Esimerkki 0.2772**

[96.09, 120.677, 213.231, 95.663, 212.515, 105.979, -97.579]

**Tulos**

106.654

**Esimerkki 0,2773**

[25.151, -10.503]

**Tulos**

7.324

**Esimerkki 0.2774**

[238.567, 35.755]

**Tulos**

137.161

**Esimerkki 0,2775**

[-22.313, 34.813, 173.026, 195.921, -40.186, 102.217, 106.297]

**Tulos**

78.539

**Esimerkki 0.2776**

[116.841, -31.109, -50.642, 93.911, 153.195, 169.393]

**Tulos**

75.265

**Esimerkki 0.2777**

[197.891, -14.144, 24.247, -79.353]

**Tulos**

32.16

**Esimerkki 0.2778**

[-9.476, 205.539, -33.277, -84.779, 21.447, -86.155, -94.619, -23.898, 207.151, 209.915]

**Tulos**

31.185

**Esimerkki 0.2779**

[56.02, 34.523, -21.397, 25.933, -97.828, 95.818, 222.919]

**Tulos**

45.141

**Esimerkki 0.2780**

[56.177, 238.37, 30.0, -90.844]

**Tulos**

58.426

**Esimerkki 0.2781**

[67.993, 83.157, 115.494, -25.188, 35.33, 122.809, 17.887, 88.492, 219.673, -52.771]

**Tulos**

67.288

**Esimerkki 0.2782**

[41.499, 163.009, 129.121, -29.203]

**Tulos**

76.107

**Esimerkki 0.2783**

[85.011, -20.439, 195.195, 114.286]

**Tulos**

93.513

**Esimerkki 0.2784**

[65.972, -62.482, -37.595, -68.513, 95.316, 53.128, -91.321]

**Tulos**

-6.499

**Esimerkki 0,2785**

[130.57, 157.221, 228.177, 32.361, 166.457]

**Tulos**

142.957

**Esimerkki 0.2786**

[-8.35, 161.351, 188.224, 112.344, -17.623]

**Tulos**

87.189

**Esimerkki 0.2787**

[90.167, 145.229, -7.463, -49.818, 212.851, 220.193, 36.707, 68.67, -82.583, -84.099]

**Tulos**

54.985

**Esimerkki 0,2788**

[2.16, 45.685, -88.374, -84.165, 236.82, 93.191, -12.777, 244.54, 101.761, -71.969]

**Tulos**

46.687

**Esimerkki 0.2789**

[7.108, -6.366, 94.3, 73.025, -27.825]

**Tulos**

28.048

**Esimerkki 0,2790**

[16.133, 34.156, -97.873]

**Tulos**

-15.861

**Esimerkki 0,2791**

[-75.264, -61.515, 132.024, 121.639, 116.464, 69.691, -19.225, 193.734, 127.735, 230.003]

**Tulos**

83.529

**Esimerkki 0,2792**

[101.674, -66.465, -11.904, 133.753, 1.621, 43.092, 51.896, -19.777]

**Tulos**

29.236

**Esimerkki 0,2793**

[-2.869, -88.698, 21.318]

**Tulos**

-23.416

**Esimerkki 0,2794**

[11.081, 186.803, 118.394, -26.374, -99.335, 168.539, 46.995]

**Tulos**

58.015

**Esimerkki 0,2795**

[41.646, -94.243, 205.813, 139.618]

**Tulos**

73.208

**Esimerkki 0,2796**

[-18.081, 134.449, 122.338, 130.477]

**Tulos**

92.296

**Esimerkki 0,2797**

[-62.365, 42.768, 156.975, 202.572, 156.767, 106.581]

**Tulos**

100.55

**Esimerkki 0.2798**

[179.564, 198.167, 2.973, 10.858, 198.17, -30.731, -77.551, -23.097]

**Tulos**

57.294

**Esimerkki 0.2799**

[149.875, 243.866, -97.256, -93.995, -24.761, 116.816, 78.857]

**Tulos**

53.343

**Esimerkki 0.2800**

[107.638, 35.363, 67.527, 206.011, 124.496, 84.019, 212.498, 77.346]

**Tulos**

114.362

**Esimerkki 0.2801**

[118.525, 186.88, 22.958, 66.43, 186.813, -48.67, 9.883, -30.751, 1.457, 4.094]

**Tulos**

51.762

**Esimerkki 0.2802**

[247.98, 121.758, -80.07, 223.361, 0.729, -64.864, -61.026, 17.993, 109.196]

**Tulos**

57.229

**Esimerkki 0.2803**

[219.428, 229.08, 24.616, -83.165, -28.839, 195.219, 170.491, -78.673]

**Tulos**

81.02

**Esimerkki 0.2804**

[-6.586, -25.096, 145.54]

**Tulos**

37.953

**Esimerkki 0.2805**

[247.927, -57.393, 107.266, 174.764, 72.691, 28.127, 189.231, -78.4, 91.335]

**Tulos**

86.172

**Esimerkki 0.2806**

[226.355, 193.858]

**Tulos**

210.106

**Esimerkki 0.2807**

[-99.693, 185.037, 184.098, 105.53, -43.717, 127.516, 155.796, 89.64, 11.893]

**Tulos**

79.567

**Esimerkki 0.2808**

[225.692, 214.471, 182.679, 79.324, 19.96, 97.946, 116.858, 233.382, 9.615, -59.464]

**Tulos**

112.046

**Esimerkki 0.2809**

[64.557, 85.806, -18.053]

**Tulos**

44.103

**Esimerkki 0.2810**

[-12.392, 57.854, 59.291, -18.155, -94.56, 94.214, -38.912]

**Tulos**

6.763

**Esimerkki 0.2811**

[-86.197, 162.215, 210.677, 164.551, 163.062, 13.106, 139.068, 114.418]

**Tulos**

110.112

**Esimerkki 0.2812**

[-40.759, 81.651, -9.157, -89.35, 27.604, -62.325, 100.805, 111.715]

**Tulos**

15.023

**Esimerkki 0.2813**

[106.529, 165.669, 209.569, 197.265, 28.654, 219.457, -65.346, 20.541, 139.632]

**Tulos**

113.552

**Esimerkki 0.2814**

[75.354, 232.628, -13.956, 88.21, 4.308, 222.534, 202.223, 79.989, 3.046]

**Tulos**

99.371

**Esimerkki 0.2815**

[82.277, -0.391, 27.208]

**Tulos**

36.365

**Esimerkki 0.2816**

[90.535, 33.423]

**Tulos**

61.979

**Esimerkki 0.2817**

[-17.004, 224.431, 235.745, 70.423, 241.216, -83.057]

**Tulos**

111.959

**Esimerkki 0.2818**

[53.672, -59.843, 203.516, 152.243, -84.811, 76.352, 124.855]

**Tulos**

66.569

**Esimerkki 0.2819**

[-96.502, 12.006]

**Tulos**

-42.248

**Esimerkki 0.2820**

[215.296, 174.515, 137.857]

**Tulos**

175.889

**Esimerkki 0.2821**

[-7.834, 187.482, 211.156, 149.637, -8.263, 116.417]

**Tulos**

108.099

**Esimerkki 0.2822**

[-79.521, 169.962, 120.036, -71.612, -53.261, -90.734, -35.559, 140.419, 25.016]

**Tulos**

13.861

**Esimerkki 0.2823**

[17.525, -40.156, 97.619, 39.431, -17.818]

**Tulos**

19.32

**Esimerkki 0.2824**

[-36.122, 189.839, 169.722, 219.047, 70.243, -51.557, 242.129, 82.828, -67.704]

**Tulos**

90.936

**Esimerkki 0,2825**

[7.044, 92.686, 28.935, 16.572, 209.733, 148.783]

**Tulos**

83.959

**Esimerkki 0,2826**

[119.367, 50.478, -88.768, 245.971, 108.363, 162.516, 207.332, 51.384]

**Tulos**

107.08

**Esimerkki 0.2827**

[120.401, 33.657, 72.355]

**Tulos**

75.471

**Esimerkki 0.2828**

[-57.108, -16.819, 79.314, 94.108, -33.463, -14.495, -48.311, 201.396, -24.222]

**Tulos**

20.044

**Esimerkki 0.2829**

[216.16, 58.77, -76.559, 200.065, 187.809, 69.246, 77.895, 200.934, 230.834]

**Tulos**

129.462

**Esimerkki 0.2830**

[176.185, 217.985, 215.867, 148.644, -3.379, -30.478, 52.771, -75.198]

**Tulos**

87.8

**Esimerkki 0.2831**

[-72.018, 234.014, 18.724, 190.081, -79.412, -48.925, -78.051, 182.76, 238.348, 48.053]

**Tulos**

63.357

**Esimerkki 0.2832**

[-43.637, -10.507]

**Tulos**

-27.072

**Esimerkki 0,2833**

[83.919, -60.731, 211.379, 101.179, 97.47, -12.119, 193.099]

**Tulos**

87.742

**Esimerkki 0.2834**

[-87.489, 33.74, 74.274, 95.47, -13.543, 240.068, 85.582, -44.767, 235.874, -99.599]

**Tulos**

51.961

**Esimerkki 0,2835**

[64.177, 189.772, 77.374, 158.914, 170.562, 246.046]

**Tulos**

151.141

**Esimerkki 0.2836**

[224.131, -2.975, 101.116, 127.048, -67.279, -25.825, 136.475, -51.855, 117.178, 219.264]

**Tulos**

77.728

**Esimerkki 0.2837**

[-74.278, 45.794]

**Tulos**

-14.242

**Esimerkki 0.2838**

[243.858, 102.55]

**Tulos**

173.204

**Esimerkki 0.2839**

[9.127, 71.679, 111.522, 144.874, -72.827]

**Tulos**

52.875

**Esimerkki 0.2840**

[70.784, -84.85, 98.171, 130.82, 117.264]

**Tulos**

66.438

**Esimerkki 0.2841**

[198.714, 103.778, 2.866, -51.72]

**Tulos**

63.41

**Esimerkki 0.2842**

[129.231, 176.643, 49.171, 166.264, 215.914, 68.386, 51.25]

**Tulos**

122.408

**Esimerkki 0.2843**

[173.785, 76.621, 20.894]

**Tulos**

90.433

**Esimerkki 0.2844**

[141.148, 94.221, 81.692, 245.566]

**Tulos**

140.657

**Esimerkki 0.2845**

[-78.906, 119.863, 44.561, 1.523]

**Tulos**

21.76

**Esimerkki 0.2846**

[-10.81, -85.2, 175.121, 211.351, 97.893]

**Tulos**

77.671

**Esimerkki 0.2847**

[134.13, -75.35, 172.328, 228.515, 198.832, 197.949, 109.706, 63.086]

**Tulos**

128.649

**Esimerkki 0.2848**

[28.128, 24.252, 22.054, -87.294, 49.547, -7.212, 222.62, 168.289, -75.692]

**Tulos**

38.299

**Esimerkki 0.2849**

[17.197, 152.985, 73.815]

**Tulos**

81.332

**Esimerkki 0,2850**

[180.829, 49.001, 147.634]

**Tulos**

125.821

**Esimerkki 0.2851**

[71.39, 133.73, -86.265, 237.963, 228.337, 220.263, 127.766, 174.117]

**Tulos**

138.413

**Esimerkki 0.2852**

[25.158, 20.179, 28.546, 3.58]

**Tulos**

19.366

**Esimerkki 0.2853**

[91.175, -15.657]

**Tulos**

37.759

**Esimerkki 0.2854**

[82.748, 43.804, -13.469, 226.705, -7.478]

**Tulos**

66.462

**Esimerkki 0.2855**

[-17.386, 58.19, -43.108, 165.447, 72.345, 196.793, 14.683, 207.301]

**Tulos**

81.783

**Esimerkki 0.2856**

[-83.345, 141.233, 70.261]

**Tulos**

42.716

**Esimerkki 0.2857**

[197.301, -51.197, 167.98, 104.697, -8.64, -83.271, 119.387, 35.643, 83.898]

**Tulos**

62.866

**Esimerkki 0.2858**

[164.352, -35.444, 209.935, 39.784, 28.937]

**Tulos**

81.513

**Esimerkki 0.2859**

[206.004, -50.48, 136.045, -40.142, -66.883]

**Tulos**

36.909

**Esimerkki 0,2860**

[38.712, -36.822, -21.095, 62.066, 138.209, 122.548]

**Tulos**

50.603

**Esimerkki 0.2861**

[48.85, 54.649, 209.159]

**Tulos**

104.219

**Esimerkki 0.2862**

[67.796, -84.772, 182.833, 87.455, 21.435, 58.087, 38.98, -18.137, 246.089]

**Tulos**

66.641

**Esimerkki 0.2863**

[38.767, 47.546, -35.98, 203.596, 49.705, 136.162, 189.591]

**Tulos**

89.912

**Esimerkki 0.2864**

[233.625, -4.734, 47.676, -59.898, 113.808, -64.25, -51.6]

**Tulos**

30.661

**Esimerkki 0,2865**

[202.606, 144.407, 56.232, 202.752, -33.035, 131.415, 238.074, -84.02, 12.128, 187.152]

**Tulos**

105.771

**Esimerkki 0.2866**

[149.512, 106.154, 30.468]

**Tulos**

95.378

**Esimerkki 0.2867**

[227.404, 94.456, 233.241, 147.762, -31.667, -62.22, -93.912]

**Tulos**

73.581

**Esimerkki 0.2868**

[40.415, 99.494, 239.871, 249.588, -95.656, -81.967, 198.271, 66.616, -30.912, 215.106]

**Tulos**

90.083

**Esimerkki 0.2869**

[15.293, 221.056, 241.387, 81.3, 102.644, 146.885, -33.65, -36.56, -69.176]

**Tulos**

74.353

**Esimerkki 0.2870**

[94.752, 94.081, 191.426]

**Tulos**

126.753

**Esimerkki 0.2871**

[127.522, 232.86, 46.593]

**Tulos**

135.658

**Esimerkki 0.2872**

[93.736, 145.866, -49.024, 149.876, 246.887, -95.296, 111.664]

**Tulos**

86.244

**Esimerkki 0.2873**

[123.362, -34.461, 120.189, 138.436, 149.314, 48.021, 211.196]

**Tulos**

108.008

**Esimerkki 0.2874**

[-57.717, 201.172, -26.345, 65.731, -99.508, -10.508, 247.418]

**Tulos**

45.749

**Esimerkki 0,2875**

[58.197, -49.495, -29.337, 64.749, -17.774, 14.023, -28.494, 166.939, 138.524, 43.757]

**Tulos**

36.109

**Esimerkki 0.2876**

[82.995, 205.771, -36.561]

**Tulos**

84.068

**Esimerkki 0.2877**

[192.736, 244.403, 157.533, 51.599]

**Tulos**

161.568

**Esimerkki 0.2878**

[61.199, 17.031, 113.586, 133.07, -94.395, -31.92, 212.336, 168.803, 108.464, -10.231]

**Tulos**

67.794

**Esimerkki 0.2879**

[224.092, 9.089, 225.266, 188.507, -24.805, -21.37, 150.695, 202.716, -56.482, -69.423]

**Tulos**

82.828

**Esimerkki 0.2880**

[247.377, 244.023, 15.205, 121.231, 99.411, 170.541, 240.514, -71.909]

**Tulos**

133.299

**Esimerkki 0.2881**

[-8.495, 176.723, -90.879, -91.41, 174.707, -27.129, 165.359]

**Tulos**

42.697

**Esimerkki 0.2882**

[186.587, 21.736, 180.639, 51.066]

**Tulos**

110.007

**Esimerkki 0.2883**

[-74.059, 235.755, -22.903, -14.89, -10.372, 236.559, 172.373, -58.796, 160.052, 203.936]

**Tulos**

82.766

**Esimerkki 0.2884**

[-69.061, -85.651, 147.303, -45.692, -50.35, -4.203, 58.14, 2.056]

**Tulos**

-5.932

**Esimerkki 0,2885**

[132.331, 36.825, 179.841, -55.073]

**Tulos**

73.481

**Esimerkki 0.2886**

[126.44, 224.653]

**Tulos**

175.546

**Esimerkki 0.2887**

[74.702, -97.547, -86.359, 181.882, 144.996]

**Tulos**

43.535

**Esimerkki 0.2888**

[-20.087, 190.801, -33.07, -46.781, 179.593, 239.585, 15.6, 82.728, -99.69, 237.17]

**Tulos**

74.585

**Esimerkki 0.2889**

[218.215, -1.599, 5.707, 35.978, 121.048]

**Tulos**

75.87

**Esimerkki 0,2890**

[145.504, 196.202, 68.464, 112.152, 83.046, -94.525, 138.408, -18.738]

**Tulos**

78.814

**Esimerkki 0.2891**

[110.612, 97.116, 204.936, -46.173, 74.248, -69.562]

**Tulos**

61.863

**Esimerkki 0.2892**

[24.467, -72.499, -34.299, 205.11, 194.261]

**Tulos**

63.408

**Esimerkki 0.2893**

[121.694, -90.704, -1.617, 187.202, 26.062, 106.371, 235.249, 42.346, -89.297]

**Tulos**

59.701

**Esimerkki 0.2894**

[231.84, -75.702, -76.577, 197.935, 160.394, 152.37, 208.164]

**Tulos**

114.061

**Esimerkki 0,2895**

[159.965, 172.082]

**Tulos**

166.024

**Esimerkki 0.2896**

[125.429, 72.671, 242.236]

**Tulos**

146.779

**Esimerkki 0,2897**

[184.703, 187.544, -53.998, 226.499, 113.867, 68.459, 171.872, 226.16, 51.401]

**Tulos**

130.723

**Esimerkki 0.2898**

[192.084, 220.115, 26.249]

**Tulos**

146.149

**Esimerkki 0.2899**

[11.296, 158.438, 240.51, -84.899, 136.207, 133.716, -66.861]

**Tulos**

75.487

**Esimerkki 0,2900**

[195.338, 6.694, 76.095]

**Tulos**

92.709

**Esimerkki 0.2901**

[99.023, 80.055, 174.922, 70.864, 175.406, -92.344, 183.968, 50.342, -13.817]

**Tulos**

80.935

**Esimerkki 0.2902**

[248.529, -46.96, 7.929, 15.357]

**Tulos**

56.214

**Esimerkki 0.2903**

[248.095, 230.389, 43.792, 2.001, 170.702, 153.847, 172.626, 32.591, 166.099, -33.334]

**Tulos**

118.681

**Esimerkki 0.2904**

[-0.23, 117.845, -87.306, -51.963, 148.074]

**Tulos**

25.284

**Esimerkki 0,2905**

[73.736, 129.162, 135.799, 133.153, -76.861, 95.336, 62.56, 7.288]

**Tulos**

70.022

**Esimerkki 0.2906**

[-46.643, 211.09, 20.251]

**Tulos**

61.566

**Esimerkki 0.2907**

[240.737, -82.618, 64.972, 26.043, 49.738, -69.772, 84.096, -78.108]

**Tulos**

29.386

**Esimerkki 0.2908**

[109.109, -95.395, 5.04, 45.497, 56.443, -72.916]

**Tulos**

7.963

**Esimerkki 0.2909**

[110.295, 124.813, 102.092]

**Tulos**

112.4

**Esimerkki 0.2910**

[17.29, 6.639, 140.595, 18.134, 51.788, 30.284, -39.61, 241.772, 10.653]

**Tulos**

53.061

**Esimerkki 0.2911**

[136.899, 214.629]

**Tulos**

175.764

**Esimerkki 0.2912**

[-35.824, 80.709, 151.663, -69.298, 20.263, 210.986, 238.061, -37.229]

**Tulos**

69.916

**Esimerkki 0.2913**

[153.482, 150.917]

**Tulos**

152.2

**Esimerkki 0.2914**

[240.751, 158.502, 206.663, 140.212, 171.747]

**Tulos**

183.575

**Esimerkki 0,2915**

[36.671, -22.506, 105.226, 153.312]

**Tulos**

68.176

**Esimerkki 0.2916**

[-80.526, 128.72]

**Tulos**

24.097

**Esimerkki 0.2917**

[63.201, -94.097]

**Tulos**

-15.448

**Esimerkki 0.2918**

[107.015, 23.458]

**Tulos**

65.237

**Esimerkki 0.2919**

[122.488, -73.626, 209.019, 118.305, 187.818, 93.208, 248.023, 93.695, 42.454, 225.39]

**Tulos**

126.677

**Esimerkki 0,2920**

[-57.678, 129.051, -52.696, -41.814, 225.866]

**Tulos**

40.546

**Esimerkki 0,2921**

[170.111, 157.513]

**Tulos**

163.812

**Esimerkki 0.2922**

[-78.743, -54.721, -68.587, 3.417, -84.896]

**Tulos**

-56.706

**Esimerkki 0.2923**

[-77.167, 232.526, 84.225, 99.531]

**Tulos**

84.779

**Esimerkki 0.2924**

[117.697, 175.951, 200.379, 164.197, 231.534, 233.314, 175.515]

**Tulos**

185.512

**Esimerkki 0,2925**

[16.863, 133.667, 174.854, -1.397, -96.701, 182.413, -68.222]

**Tulos**

48.782

**Esimerkki 0,2926**

[183.243, 56.124, 69.958, 141.219, -24.41, 126.355, -33.45, 102.279]

**Tulos**

77.665

**Esimerkki 0.2927**

[-7.319, -34.129, 192.024, 208.682, -74.814, -11.554, -30.72, 142.768]

**Tulos**

48.117

**Esimerkki 0,2928**

[-26.632, -55.927, 227.255, 237.568, 203.07, 200.797, 31.871]

**Tulos**

116.857

**Esimerkki 0,2929**

[161.885, 0.773, -89.184, 168.534, 154.349]

**Tulos**

79.271

**Esimerkki 0,2930**

[1.949, -70.019, 228.413, 102.775, -42.417, 138.511, 181.459, 15.207]

**Tulos**

69.485

**Esimerkki 0.2931**

[21.756, 126.526, 28.967, 186.044, 196.473, -40.251, -45.086, 17.535, 137.938, -91.651]

**Tulos**

53.825

**Esimerkki 0.2932**

[206.49, 142.105, -86.289, 247.909, -67.045, 12.449, 64.45, 142.742, -18.657, 170.507]

**Tulos**

81.466

**Esimerkki 0,2933**

[62.414, 196.301, -32.507, -55.959, 67.92, 31.502]

**Tulos**

44.945

**Esimerkki 0,2934**

[-3.302, 23.685, 69.661, 74.979, -46.96]

**Tulos**

23.613

**Esimerkki 0,2935**

[-62.959, 84.463]

**Tulos**

10.752

**Esimerkki 0,2936**

[-95.341, -24.108, 6.623]

**Tulos**

-37.609

**Esimerkki 0,2937**

[30.7, 241.916, 245.677, -26.708, 212.446, 81.786, 208.412, 237.096, 155.359]

**Tulos**

154.076

**Esimerkki 0.2938**

[-46.14, -0.077, 72.663, 81.035, -24.144, 66.514, 98.199]

**Tulos**

35.436

**Esimerkki 0.2939**

[33.948, 132.405, -69.128, 33.296, 35.864, -58.743, 62.847, 237.149, 54.19]

**Tulos**

51.314

**Esimerkki 0,2940**

[232.415, 41.128, -57.726, 85.509, 193.599, 193.053, 170.655, 214.266, 3.58, 118.394]

**Tulos**

119.487

**Esimerkki 0,2941**

[108.431, -57.37, 228.857, 229.587, 206.483]

**Tulos**

143.198

**Esimerkki 0,2942**

[21.659, 63.646, -97.361]

**Tulos**

-4.019

**Esimerkki 0,2943**

[17.608, 239.548, 40.829, 220.402, -70.145]

**Tulos**

89.648

**Esimerkki 0,2944**

[219.198, -79.178, 249.229, 118.464]

**Tulos**

126.928

**Esimerkki 0,2945**

[127.009, 113.502, -70.799, -97.27]

**Tulos**

18.11

**Esimerkki 0,2946**

[-42.289, 144.521]

**Tulos**

51.116

**Esimerkki 0,2947**

[117.3, 139.873, -78.605, -32.703, 13.848, 129.699, 125.607]

**Tulos**

59.288

**Esimerkki 0,2948**

[36.507, 88.236, 175.062, 47.782]

**Tulos**

86.897

**Esimerkki 0,2949**

[113.544, 39.961]

**Tulos**

76.752

**Esimerkki 0,2950**

[51.66, 58.159, 168.666, -70.01, 204.748, 234.693, 137.51, 247.334, 189.8]

**Tulos**

135.84

**Esimerkki 0.2951**

[214.571, -62.326]

**Tulos**

76.122

**Esimerkki 0.2952**

[133.842, 101.473, 152.47, -21.724, 61.343, -38.845, 138.237, -35.055, 76.845]

**Tulos**

63.176

**Esimerkki 0.2953**

[69.258, -2.757, -58.428]

**Tulos**

2.691

**Esimerkki 0.2954**

[69.459, 195.636, 86.282, 225.846, 246.286]

**Tulos**

164.702

**Esimerkki 0,2955**

[150.092, -83.15, -26.338, 245.153, 169.346, 23.971, -98.665]

**Tulos**

54.344

**Esimerkki 0.2956**

[-47.011, 188.981, 162.934, 78.594, 20.617, 176.363, 118.07, -50.264, 202.433, 249.137]

**Tulos**

109.985

**Esimerkki 0.2957**

[58.045, -76.66]

**Tulos**

-9.307

**Esimerkki 0.2958**

[15.991, 215.707, 219.567, -33.76, -28.687]

**Tulos**

77.764

**Esimerkki 0.2959**

[193.927, 120.599, 239.041, 198.231, 1.237, -76.34, -18.239, -97.382, 18.979, -53.788]

**Tulos**

52.626

**Esimerkki 0,2960**

[102.964, 176.013, 78.687, 58.353]

**Tulos**

104.004

**Esimerkki 0.2961**

[140.332, 92.06]

**Tulos**

116.196

**Esimerkki 0.2962**

[7.952, -99.35, -39.161]

**Tulos**

-43.52

**Esimerkki 0.2963**

[-64.512, 228.31, 208.19, 142.367, 58.623, 181.565, -72.181, 132.976]

**Tulos**

101.917

**Esimerkki 0.2964**

[222.94, 54.014, 232.208, -16.089, 214.915, 2.232]

**Tulos**

118.37

**Esimerkki 0,2965**

[169.826, 15.716, 226.125, -34.81, 229.567, 237.92, 102.999]

**Tulos**

135.335

**Esimerkki 0.2966**

[87.789, -11.945, 155.115, 81.856, -73.176, 64.915]

**Tulos**

50.759

**Esimerkki 0,2967**

[247.977, 80.489, -8.363, 7.214]

**Tulos**

81.829

**Esimerkki 0.2968**

[15.821, 241.472]

**Tulos**

128.646

**Esimerkki 0.2969**

[-28.295, -24.828, -66.96, -12.108, -96.597, 110.99, 172.86, -18.752, 157.717]

**Tulos**

21.559

**Esimerkki 0.2970**

[80.783, 82.917, 191.828, 34.918]

**Tulos**

97.612

**Esimerkki 0,2971**

[163.598, 129.758, 237.743, -86.766]

**Tulos**

111.083

**Esimerkki 0.2972**

[-12.212, 121.682, 243.266, 229.181]

**Tulos**

145.479

**Esimerkki 0,2973**

[102.812, 153.583]

**Tulos**

128.197

**Esimerkki 0.2974**

[61.766, -42.218, 63.408]

**Tulos**

27.652

**Esimerkki 0,2975**

[61.265, 131.71, 67.587, -70.842, 93.658, 178.703]

**Tulos**

77.014

**Esimerkki 0.2976**

[236.945, 167.818, 25.117, 231.624]

**Tulos**

165.376

**Esimerkki 0.2977**

[-25.548, 60.76, -71.291, 28.584, -42.004]

**Tulos**

-9.9

**Esimerkki 0.2978**

[80.803, 65.546, 76.403, -70.123, 170.782, 214.183, 140.971, 152.912]

**Tulos**

103.935

**Esimerkki 0.2979**

[99.113, 106.04, -22.198]

**Tulos**

60.985

**Esimerkki 0.2980**

[-73.462, 3.395, 34.661, 125.56, 36.342, 77.376, 12.075, -13.797]

**Tulos**

25.269

**Esimerkki 0.2981**

[132.829, -6.545, -93.263, -37.056]

**Tulos**

-1.009

**Esimerkki 0.2982**

[221.003, 30.464]

**Tulos**

125.733

**Esimerkki 0.2983**

[-97.19, 171.569, 228.163, 183.696, -98.925, -42.398, 227.564, 219.719]

**Tulos**

99.025

**Esimerkki 0.2984**

[96.41, 60.003, 73.732, 160.313, 145.068, -31.278]

**Tulos**

84.041

**Esimerkki 0,2985**

[-60.481, 134.688]

**Tulos**

37.104

**Esimerkki 0,2986**

[-31.181, -2.589, 51.847, 105.073, -66.206, 162.609, -12.31, 190.92, -33.967, 222.499]

**Tulos**

58.669

**Esimerkki 0,2987**

[172.689, -25.975, 66.37, -36.164, 217.224, 153.374, -94.201, 62.836, -52.505, 203.928]

**Tulos**

66.758

**Esimerkki 0.2988**

[73.652, 174.469]

**Tulos**

124.06

**Esimerkki 0.2989**

[-55.231, 40.654, -5.066, 187.427, 206.857, 126.982, -76.143, 210.762, 40.654, 76.568]

**Tulos**

75.346

**Esimerkki 0.2990**

[139.61, -37.377, 157.306]

**Tulos**

86.513

**Esimerkki 0.2991**

[105.543, 97.833, 58.301, 118.635]

**Tulos**

95.078

**Esimerkki 0.2992**

[142.918, 73.538, -21.54, -52.028, 103.72, 85.296, -39.189, 70.144, 118.987, 142.673]

**Tulos**

62.452

**Esimerkki 0.2993**

[-84.559, 246.144, 57.783, 108.377]

**Tulos**

81.936

**Esimerkki 0.2994**

[-27.836, -94.276, 181.035, -67.014, 206.98, 59.862, 118.115]

**Tulos**

53.838

**Esimerkki 0,2995**

[41.081, 166.314, -14.556, -84.648, -8.286]

**Tulos**

19.981

**Esimerkki 0.2996**

[79.82, 218.225, 156.585, 21.813, 181.413, 118.767, -40.274]

**Tulos**

105.193

**Esimerkki 0.2997**

[111.795, 7.779, 210.061, 171.378, -8.863, 120.227]

**Tulos**

102.063

**Esimerkki 0.2998**

[157.541, 69.762, 143.954, 207.806]

**Tulos**

144.766

**Esimerkki 0.2999**

[68.729, -19.824]

**Tulos**

24.452

**Esimerkki 0.3000**

[229.062, 206.592, 23.852, 77.263, 193.115, 150.963]

**Tulos**

146.808

**Esimerkki 0.3001**

[218.725, 201.379, 122.525, -52.685, 31.401, 209.371, 215.647, 208.345, 135.43, 135.002]

**Tulos**

142.514

**Esimerkki 0.3002**

[-27.303, 177.383, 187.885, 140.589, 17.126, -67.584, 193.335]

**Tulos**

88.776

**Esimerkki 0.3003**

[147.592, 224.196, 28.109, -45.353, 89.961, 85.515]

**Tulos**

88.337

**Esimerkki 0.3004**

[13.444, 219.598, 148.905]

**Tulos**

127.316

**Esimerkki 0.3005**

[-87.538, -7.561, 26.601, 135.996, -42.301, 225.007, 144.611, -15.788]

**Tulos**

47.378

**Esimerkki 0.3006**

[48.93, 238.524, -14.63, 101.761, -82.188, 82.759]

**Tulos**

62.526

**Esimerkki 0.3007**

[173.758, 23.253, 84.353, 124.544, -62.561, 65.581]

**Tulos**

68.155

**Esimerkki 0.3008**

[222.157, 29.076, 35.33, 65.954, 111.359, 50.22]

**Tulos**

85.683

**Esimerkki 0.3009**

[245.134, 62.209, 94.18, 238.218, 28.385, 150.906, 139.02, 246.925, 126.08]

**Tulos**

147.895

**Esimerkki 0.3010**

[205.777, 186.173, 208.307, 235.504, 98.185, 154.014, 248.815, 153.146]

**Tulos**

186.24

**Esimerkki 0.3011**

[9.493, 8.117, 160.621, 71.858, 70.481]

**Tulos**

64.114

**Esimerkki 0.3012**

[-20.68, 49.196, 52.987]

**Tulos**

27.168

**Esimerkki 0.3013**

[49.13, 178.059, -44.781]

**Tulos**

60.803

**Esimerkki 0.3014**

[-24.214, 67.235]

**Tulos**

21.51

**Esimerkki 0,3015**

[161.092, 56.028, 200.059, 103.681, -45.709, 220.499]

**Tulos**

115.942

**Esimerkki 0.3016**

[-9.435, 88.384, -52.794]

**Tulos**

8.718

**Esimerkki 0.3017**

[238.269, 71.514, 132.383]

**Tulos**

147.389

**Esimerkki 0.3018**

[140.529, 104.904, 116.191]

**Tulos**

120.541

**Esimerkki 0.3019**

[91.361, 57.187, 120.884, 39.389, -37.188]

**Tulos**

54.327

**Esimerkki 0.3020**

[-81.914, 65.275, -49.19]

**Tulos**

-21.943

**Esimerkki 0,3021**

[92.503, 2.126, 37.354, -98.515, -5.996, 210.896, -86.373]

**Tulos**

21.714

**Esimerkki 0.3022**

[99.809, 35.577, 94.409, -13.563]

**Tulos**

54.058

**Esimerkki 0.3023**

[94.205, 67.561]

**Tulos**

80.883

**Esimerkki 0,3024**

[45.112, 147.024, -15.583, 33.655, -60.031]

**Tulos**

30.035

**Esimerkki 0,3025**

[244.079, 112.59, -81.032]

**Tulos**

91.879

**Esimerkki 0,3026**

[159.332, -99.73, -97.319, -0.091, 129.937, 152.291, -26.99, 80.148, -76.2, 86.403]

**Tulos**

30.778

**Esimerkki 0.3027**

[37.652, 151.057, -69.706, 95.099]

**Tulos**

53.526

**Esimerkki 0,3028**

[112.134, 102.301, 12.44, 102.084, 146.014, -21.711, 145.399]

**Tulos**

85.523

**Esimerkki 0.3029**

[-62.202, 222.562, -18.684, 67.674, -41.353, 134.927, -92.211]

**Tulos**

30.102

**Esimerkki 0,3030**

[195.542, 52.956, -69.351, 89.485, 119.023, -85.604]

**Tulos**

50.342

**Esimerkki 0,3031**

[17.093, 20.049, 20.223, -5.753, -15.881, -78.606]

**Tulos**

-7.146

**Esimerkki 0,3032**

[137.463, -53.647, -83.336, -17.873, 135.3, 138.149, 198.283, -74.7]

**Tulos**

47.455

**Esimerkki 0,3033**

[229.366, 136.878, -63.657, 77.734, 113.334, 130.379, 130.19, -51.455, -32.275, 112.56]

**Tulos**

78.305

**Esimerkki 0,3034**

[-51.625, 100.25, -75.262, -53.896]

**Tulos**

-20.133

**Esimerkki 0,3035**

[215.138, -23.809]

**Tulos**

95.664

**Esimerkki 0.3036**

[183.579, 204.086, -55.275, -75.96, 144.491, 64.71, 180.828, 2.069, -28.085]

**Tulos**

68.938

**Esimerkki 0.3037**

[-3.267, 58.572, -51.668, -39.46, 71.943, 16.452, -81.657]

**Tulos**

-4.155

**Esimerkki 0,3038**

[-15.742, 162.92, 41.11, -19.597, 75.539, 41.934, 120.605]

**Tulos**

58.11

**Esimerkki 0.3039**

[-54.808, 165.719, 109.049, -74.175, -62.903]

**Tulos**

16.576

**Esimerkki 0.3040**

[239.009, 122.609]

**Tulos**

180.809

**Esimerkki 0.3041**

[-87.68, 97.154, 61.47, 32.543]

**Tulos**

25.872

**Esimerkki 0.3042**

[184.477, 178.133, 206.128, 148.349, 50.82, 33.624, 196.968, 179.804]

**Tulos**

147.288

**Esimerkki 0.3043**

[66.572, -62.148, 181.054, 103.441, 39.199, 232.343]

**Tulos**

93.41

**Esimerkki 0.3044**

[36.398, -99.571, -52.167, 120.272, 187.047, 150.904, -73.368, 76.442]

**Tulos**

43.245

**Esimerkki 0,3045**

[187.908, -10.534, -70.911, -26.095, 56.286, 93.628, -99.012, 157.864]

**Tulos**

36.142

**Esimerkki 0.3046**

[91.753, 238.873, 173.636, 112.958, -4.835, 231.612, 242.081, 24.421, 71.62, 217.499]

**Tulos**

139.962

**Esimerkki 0.3047**

[-14.651, 67.293]

**Tulos**

26.321

**Esimerkki 0.3048**

[45.213, 53.31, 191.443, -49.801, 170.298, 20.348, -70.266, 105.989, -34.239]

**Tulos**

48.033

**Esimerkki 0.3049**

[143.804, 211.397, -82.133, -85.488, 246.214, 158.184]

**Tulos**

98.663

**Esimerkki 0,3050**

[-26.373, 41.362, 154.188, 209.73, 59.474]

**Tulos**

87.676

**Esimerkki 0.3051**

[85.138, 39.129, 92.876, 225.752, 28.842, 180.221, 222.887, 122.257]

**Tulos**

124.638

**Esimerkki 0.3052**

[125.868, 218.221, 171.193, 23.318, -3.867]

**Tulos**

106.947

**Esimerkki 0,3053**

[-43.959, 161.939]

**Tulos**

58.99

**Esimerkki 0.3054**

[13.114, 167.099, 72.666, -94.604, -16.945]

**Tulos**

28.266

**Esimerkki 0,3055**

[114.898, 91.618]

**Tulos**

103.258

**Esimerkki 0.3056**

[41.058, 165.719]

**Tulos**

103.388

**Esimerkki 0.3057**

[176.019, 199.027, -92.575, -10.692, 206.093, 130.295]

**Tulos**

101.361

**Esimerkki 0.3058**

[20.796, 39.383, -26.46, -27.224, 89.591, 87.502, 211.781, 127.87, 223.38]

**Tulos**

82.958

**Esimerkki 0.3059**

[126.562, 39.793]

**Tulos**

83.178

**Esimerkki 0,3060**

[135.719, -52.103, 33.884, 82.913, 166.355, 104.277, -45.715, 229.094]

**Tulos**

81.803

**Esimerkki 0.3061**

[190.141, 190.067]

**Tulos**

190.104

**Esimerkki 0.3062**

[50.38, -50.682, 129.728, -21.02, 163.604, 138.94]

**Tulos**

68.492

**Esimerkki 0,3063**

[193.548, 146.357, 173.805, 228.987]

**Tulos**

185.674

**Esimerkki 0,3064**

[191.851, 52.413, 83.974, 10.09, -22.928, 3.772, 107.06, -14.847, 54.885]

**Tulos**

51.808

**Esimerkki 0,3065**

[-75.286, 109.366, 206.553, -13.711, 118.983, -38.827, 233.569, -35.763]

**Tulos**

63.11

**Esimerkki 0,3066**

[98.452, -17.106, -19.888]

**Tulos**

20.486

**Esimerkki 0.3067**

[100.115, -51.525, -19.534, 80.669, 209.359, -4.132, 35.93]

**Tulos**

50.126

**Esimerkki 0.3068**

[15.748, -13.369, -79.943, -2.78, 169.174, 101.44, -84.923, 189.589, 83.541, -37.629]

**Tulos**

34.085

**Esimerkki 0.3069**

[-20.161, -82.699, -55.493, 129.829, 14.679, 221.727, -18.924, 9.331]

**Tulos**

24.786

**Esimerkki 0,3070**

[43.362, 111.151, 162.709, 43.974, 184.165, 238.15, 181.927]

**Tulos**

137.92

**Esimerkki 0.3071**

[-6.346, 229.499, 59.394, -25.871, 176.386, 4.202, 2.839]

**Tulos**

62.872

**Esimerkki 0.3072**

[141.896, 234.549, -9.124, -77.691]

**Tulos**

72.408

**Esimerkki 0.3073**

[204.581, -25.005, 47.493, -74.782, 21.48, 130.0]

**Tulos**

50.628

**Esimerkki 0.3074**

[206.289, -8.849, 56.154, -53.117, -64.061, -74.533, 131.111, 107.938, 201.014, 75.021]

**Tulos**

57.697

**Esimerkki 0,3075**

[-66.676, -7.063, -18.028, 13.407, 54.369, 148.394, -93.155]

**Tulos**

4.464

**Esimerkki 0.3076**

[-9.764, 197.679, -65.29, 8.507]

**Tulos**

32.783

**Esimerkki 0.3077**

[40.037, 194.165]

**Tulos**

117.101

**Esimerkki 0.3078**

[-82.703, -39.074, 53.456, 233.114, 189.007]

**Tulos**

70.76

**Esimerkki 0.3079**

[24.119, 239.006, 239.873, 236.27, 134.34]

**Tulos**

174.722

**Esimerkki 0.3080**

[119.366, 223.32]

**Tulos**

171.343

**Esimerkki 0.3081**

[22.093, -87.244, 132.342, -46.156, 125.128, 202.453]

**Tulos**

58.103

**Esimerkki 0.3082**

[149.906, 3.696]

**Tulos**

76.801

**Esimerkki 0.3083**

[34.98, 22.713, 7.428, -64.016, 175.203]

**Tulos**

35.262

**Esimerkki 0.3084**

[232.583, 79.532, -20.355, -54.572, 148.178, 28.968, -89.316, -9.223, 162.433]

**Tulos**

53.136

**Esimerkki 0,3085**

[-66.735, 23.822, -34.5, 118.327, 242.333]

**Tulos**

56.649

**Esimerkki 0.3086**

[-48.196, 15.566, 65.782, 174.566, -91.786, 52.379, 2.658, 76.856]

**Tulos**

30.978

**Esimerkki 0.3087**

[63.095, 184.815, -40.433, 166.652, 99.845, 5.327, 10.495, 187.0, -4.594]

**Tulos**

74.689

**Esimerkki 0,3088**

[149.527, 120.095, -18.877, -80.746, 84.564, 166.231, 29.327, -80.44]

**Tulos**

46.21

**Esimerkki 0.3089**

[196.625, 99.29, -13.357, 29.661, -13.851, 180.269, 164.626]

**Tulos**

91.895

**Esimerkki 0,3090**

[1.895, -23.611, 97.048, 44.798, 105.695, 18.329, 248.611, 47.08, 184.901, 93.802]

**Tulos**

81.855

**Esimerkki 0.3091**

[77.498, 234.955, 184.005, -48.344, 113.167]

**Tulos**

112.256

**Esimerkki 0.3092**

[-77.705, 141.542, 119.674, -41.002, -51.183, -73.05, -46.322, 79.157, -19.117]

**Tulos**

3.555

**Esimerkki 0.3093**

[135.175, -6.702, 51.401, 181.758]

**Tulos**

90.408

**Esimerkki 0,3094**

[147.895, -56.992, 16.321, -86.823, 2.268, 170.796, 217.458, 143.801, 221.719]

**Tulos**

86.271

**Esimerkki 0,3095**

[-38.699, 16.918, -67.005]

**Tulos**

-29.595

**Esimerkki 0.3096**

[-39.282, 206.858, 196.099, -35.2, 81.961, 211.819, 44.598, 97.441, -66.653, 66.857]

**Tulos**

76.45

**Esimerkki 0,3097**

[189.105, 132.945, 26.326, 56.516, 150.192, 148.77, 119.496]

**Tulos**

117.621

**Esimerkki 0.3098**

[237.296, 218.941, -21.222, 214.839, -39.233, 93.031]

**Tulos**

117.275

**Esimerkki 0.3099**

[126.385, 170.989, 87.53, 189.61, 81.127, 66.699]

**Tulos**

120.39

**Esimerkki 0,3100**

[233.453, -25.213, 142.087]

**Tulos**

116.776

**Esimerkki 0.3101**

[178.931, 227.744, -94.385, 227.269, 27.205, -93.034, 243.507]

**Tulos**

102.462

**Esimerkki 0.3102**

[218.036, 219.057, 63.243]

**Tulos**

166.779

**Esimerkki 0.3103**

[19.958, 79.036, 36.158, 116.356, 189.271]

**Tulos**

88.156

**Esimerkki 0.3104**

[-17.508, 162.093, 118.367, 84.373, 156.946, 157.234, 222.37, 72.338, 220.575]

**Tulos**

130.754

**Esimerkki 0,3105**

[-55.795, 127.337, 208.221, 8.177]

**Tulos**

71.985

**Esimerkki 0.3106**

[14.587, 49.21, -21.274, -54.714, 243.935, 218.436]

**Tulos**

75.03

**Esimerkki 0.3107**

[86.277, 221.081]

**Tulos**

153.679

**Esimerkki 0.3108**

[124.705, 156.599]

**Tulos**

140.652

**Esimerkki 0.3109**

[101.752, -1.441, -81.705, -93.019, 62.029]

**Tulos**

-2.477

**Esimerkki 0,3110**

[112.381, 100.019, 66.08, 208.981, 138.58]

**Tulos**

125.208

**Esimerkki 0.3111**

[185.774, 65.296, 178.62, -19.559, 162.832]

**Tulos**

114.593

**Esimerkki 0.3112**

[126.705, 55.594, 168.974, 134.593, 82.585, 39.393]

**Tulos**

101.307

**Esimerkki 0.3113**

[60.906, 170.092, 173.152]

**Tulos**

134.717

**Esimerkki 0.3114**

[23.599, -32.069, 215.673, 238.27]

**Tulos**

111.368

**Esimerkki 0.3115**

[-72.363, 92.796, 135.977, 216.226, 166.191, 57.433]

**Tulos**

99.377

**Esimerkki 0.3116**

[247.48, 19.393, 130.942]

**Tulos**

132.605

**Esimerkki 0.3117**

[73.765, 158.89, 18.469, 92.029, -0.516, 128.997, 202.802, 3.991, 6.347, 201.252]

**Tulos**

88.603

**Esimerkki 0.3118**

[161.907, -96.805, 55.916, 55.05, 54.597]

**Tulos**

46.133

**Esimerkki 0.3119**

[-89.27, 142.056, -3.074, 248.143, -81.367]

**Tulos**

43.298

**Esimerkki 0,3120**

[-96.229, 200.453]

**Tulos**

52.112

**Esimerkki 0.3121**

[-95.175, -96.957, -12.804, -25.205, 229.327, 194.19]

**Tulos**

32.229

**Esimerkki 0.3122**

[151.993, 25.416]

**Tulos**

88.704

**Esimerkki 0.3123**

[169.344, 51.979, 150.113, 6.619, -60.536, 134.488, -90.731]

**Tulos**

51.611

**Esimerkki 0.3124**

[-48.174, -65.43, -35.345, -39.192, -88.741, 81.764, 113.912, 85.061, 139.932]

**Tulos**

15.976

**Esimerkki 0,3125**

[10.47, 219.03]

**Tulos**

114.75

**Esimerkki 0,3126**

[237.236, -47.943, 172.797, 103.68, 170.427, 224.622, 59.225, -50.297, 139.341]

**Tulos**

112.121

**Esimerkki 0,3127**

[-99.313, -30.486, 160.969, 180.122, -89.023]

**Tulos**

24.454

**Esimerkki 0.3128**

[15.249, -17.036]

**Tulos**

-0.894

**Esimerkki 0.3129**

[199.242, 157.851, -17.266, 41.757, -4.215, 135.592, 25.369]

**Tulos**

76.904

**Esimerkki 0,3130**

[98.45, 78.568]

**Tulos**

88.509

**Esimerkki 0.3131**

[-23.262, 57.989, 26.8, 99.328, 109.967, -55.544, -30.089, 151.257, 58.043]

**Tulos**

43.832

**Esimerkki 0,3132**

[162.26, 79.268]

**Tulos**

120.764

**Esimerkki 0,3133**

[230.02, 185.716, 56.419, 46.123, -30.498, 143.099, -87.367, -65.327, 125.229]

**Tulos**

67.046

**Esimerkki 0,3134**

[93.679, -6.551, 30.807, 212.676, 210.485, 190.563, -44.189, 128.414, 188.575, -56.399]

**Tulos**

94.806

**Esimerkki 0,3135**

[-31.225, 32.314, 25.235, 156.735, -42.066, 139.87, -12.819, 46.005, 142.618, -79.624]

**Tulos**

37.704

**Esimerkki 0,3136**

[214.085, 240.112, 120.008, 153.245, 246.47]

**Tulos**

194.784

**Esimerkki 0,3137**

[169.131, -79.809, 119.898, 174.146, -1.167, 89.734, 155.318, -26.905, 182.476, 164.085]

**Tulos**

94.691

**Esimerkki 0,3138**

[71.235, 31.881, 169.818, 74.038]

**Tulos**

86.743

**Esimerkki 0,3139**

[-93.692, -63.685, 204.753, 2.715, 222.204]

**Tulos**

54.459

**Esimerkki 0,3140**

[57.506, 172.357, 191.473, 131.849]

**Tulos**

138.296

**Esimerkki 0.3141**

[-3.281, 84.204, -74.415, 151.616, 14.048, -98.313, 95.625, -79.981]

**Tulos**

11.188

**Esimerkki 0,3142**

[22.894, 154.361, -77.253, 196.073]

**Tulos**

74.019

**Esimerkki 0,3143**

[27.217, 183.886, -79.07, -22.32, 10.706, 111.448, 163.842, 133.608, 87.286, 49.082]

**Tulos**

66.568

**Esimerkki 0,3144**

[-84.291, 87.058, 222.093, -24.8, 33.462, 146.028, 102.483, 123.502]

**Tulos**

75.692

**Esimerkki 0,3145**

[80.493, 235.968, -57.18, 38.066, -86.511, 193.785, 156.598, 45.139, 61.791, 141.607]

**Tulos**

80.976

**Esimerkki 0,3146**

[-9.243, 242.668, -26.051, 221.991, 140.845, 135.959, 21.123, 175.187]

**Tulos**

112.81

**Esimerkki 0,3147**

[238.505, 172.937, 68.753, 120.888, 86.228, 147.471, -63.624, 50.577, 99.186]

**Tulos**

102.325

**Esimerkki 0,3148**

[-35.762, 139.096, -42.495, 212.873, 171.092, 51.289, -17.019]

**Tulos**

68.439

**Esimerkki 0,3149**

[238.279, 94.049, 239.727, 233.086, 169.93, 181.465]

**Tulos**

192.756

**Esimerkki 0,3150**

[193.711, 110.309, -20.334, 151.607, 158.797, -97.825, -59.931]

**Tulos**

62.333

**Esimerkki 0.3151**

[32.661, 99.26, 20.595, -64.167, 28.87, 196.285, 162.102]

**Tulos**

67.944

**Esimerkki 0.3152**

[85.234, 175.382, -32.958, 63.008, 68.871, 237.523, -32.28, 191.82]

**Tulos**

94.575

**Esimerkki 0,3153**

[223.512, 141.577, 132.838, 42.442, -82.101, 100.269, 222.062, 149.605]

**Tulos**

116.276

**Esimerkki 0,3154**

[-33.154, 108.676, -78.001, -36.634]

**Tulos**

-9.778

**Esimerkki 0,3155**

[16.315, 212.855, 144.117, 234.26, 229.396, 41.769, 37.15, 175.404]

**Tulos**

136.408

**Esimerkki 0,3156**

[191.229, -4.985, -59.758, 248.142, -58.435, -13.462, 141.933, -54.943, -26.838]

**Tulos**

40.32

**Esimerkki 0,3157**

[130.24, 7.735, 123.557]

**Tulos**

87.177

**Esimerkki 0.3158**

[93.577, 156.005, 201.591, 136.865, 158.713, 2.002, -34.416, 208.147]

**Tulos**

115.31

**Esimerkki 0.3159**

[-75.394, 243.243]

**Tulos**

83.924

**Esimerkki 0,3160**

[195.469, 110.294, 150.829, 116.396, 133.183, 75.968, -18.798, 56.574, 67.084]

**Tulos**

98.555

**Esimerkki 0.3161**

[247.972, 41.229, 14.158]

**Tulos**

101.12

**Esimerkki 0.3162**

[-37.144, -55.265, 138.837, 117.883, 237.067, 59.077, 48.214]

**Tulos**

72.667

**Esimerkki 0,3163**

[214.97, 227.824, 175.697, 22.65, 94.011, 21.752, 138.667, 130.376, 83.819]

**Tulos**

123.307

**Esimerkki 0.3164**

[188.282, 26.965]

**Tulos**

107.624

**Esimerkki 0,3165**

[-95.317, 234.28, 50.709, -52.738, 146.488, 94.792, 154.517, 113.549, 240.638]

**Tulos**

98.546

**Esimerkki 0,3166**

[144.626, 65.987, -98.866, 108.491]

**Tulos**

55.06

**Esimerkki 0,3167**

[116.151, 209.623, -17.375, -10.235, 41.981, 39.065]

**Tulos**

63.202

**Esimerkki 0.3168**

[-63.278, 115.92, 179.699, 73.157]

**Tulos**

76.374

**Esimerkki 0.3169**

[161.691, 192.391, 194.275, 142.11, -44.836, -6.556]

**Tulos**

106.512

**Esimerkki 0.3170**

[71.499, 234.969, 205.708, 224.068, 20.084, 217.317, 213.788, 120.222, 134.435, 124.34]

**Tulos**

156.643

**Esimerkki 0,3171**

[94.64, 13.24, -67.221, -22.958, -92.145, 56.155, -54.903, 172.768, -68.936, 171.236]

**Tulos**

20.188

**Esimerkki 0.3172**

[208.988, -1.509, 123.136, -17.614, -52.895, 206.354, 46.43, 104.985, 181.221, 46.689]

**Tulos**

84.578

**Esimerkki 0,3173**

[144.072, 49.947, 218.657, -59.19, -70.341, 150.757, -0.989, -39.73, 145.329, -79.324]

**Tulos**

45.919

**Esimerkki 0,3174**

[-76.912, 56.227, -89.602, 65.55, 38.35, 234.229, 36.577, 244.602]

**Tulos**

63.628

**Esimerkki 0,3175**

[86.266, 108.683, -39.327, 154.207, -6.579, -69.091, -58.699, 75.526]

**Tulos**

31.373

**Esimerkki 0,3176**

[33.37, 171.691]

**Tulos**

102.53

**Esimerkki 0,3177**

[114.576, 223.373, -6.895]

**Tulos**

110.351

**Esimerkki 0.3178**

[29.126, -30.896, -3.987, 158.774, 227.775, 225.188, 230.52, 198.699]

**Tulos**

129.4

**Esimerkki 0.3179**

[105.521, 59.253, 117.012, 129.965, 95.155]

**Tulos**

101.381

**Esimerkki 0.3180**

[206.692, -93.264, -95.685, 63.499, -46.015, 174.115, 136.415]

**Tulos**

49.394

**Esimerkki 0,3181**

[245.062, 197.869]

**Tulos**

221.466

**Esimerkki 0.3182**

[-57.799, 197.667, 34.767, 50.625, 74.938, 26.508, 195.054, 29.311, 208.064, 33.079]

**Tulos**

79.221

**Esimerkki 0,3183**

[85.748, 100.358, 61.078, -20.752, 169.024]

**Tulos**

79.091

**Esimerkki 0.3184**

[0.937, 14.933, 42.489, 224.385, 218.168, 61.875, -92.155, 207.237, 125.822, 1.474]

**Tulos**

80.516

**Esimerkki 0,3185**

[-7.892, -43.609, 46.236, -78.213, -76.066]

**Tulos**

-31.909

**Esimerkki 0,3186**

[106.278, 85.646, 165.298]

**Tulos**

119.074

**Esimerkki 0,3187**

[70.485, 231.704, -98.046, -30.011, 80.665, 168.282, 224.41]

**Tulos**

92.498

**Esimerkki 0,3188**

[-81.254, 209.924, 18.389, 227.651, -1.093, -11.718, -78.72, 172.961]

**Tulos**

57.018

**Esimerkki 0.3189**

[-90.119, -29.624, 162.765, 246.069, 150.043, 163.064, -89.514, 69.026, 249.461]

**Tulos**

92.352

**Esimerkki 0,3190**

[163.203, 138.494, -6.228, -72.341, -95.417, 227.761, 176.36]

**Tulos**

75.976

**Esimerkki 0,3191**

[-90.8, -48.947, 70.645, 129.195, 6.14, 114.037, 192.758, 136.033, 117.431, 28.696]

**Tulos**

65.519

**Esimerkki 0,3192**

[202.933, 177.244, -42.826, 213.102, 23.514, -43.793, 171.372]

**Tulos**

100.221

**Esimerkki 0,3193**

[239.17, 88.216, 6.914, -47.821, 77.692, 180.821, 116.501, -31.882]

**Tulos**

78.701

**Esimerkki 0,3194**

[61.387, 195.534, -73.483, 37.09]

**Tulos**

55.132

**Esimerkki 0,3195**

[67.167, 211.8, 234.299, 1.436, -39.638, 32.48, 4.307]

**Tulos**

73.122

**Esimerkki 0,3196**

[29.292, 193.26, -48.646]

**Tulos**

57.969

**Esimerkki 0,3197**

[120.236, 116.311, -13.268]

**Tulos**

74.426

**Esimerkki 0,3198**

[122.544, 131.643, -43.903]

**Tulos**

70.095

**Esimerkki 0,3199**

[62.394, 31.099]

**Tulos**

46.746

**Esimerkki 0.3200**

[-21.77, 172.703, -31.807, 129.587, 84.624, 14.279]

**Tulos**

57.936

**Esimerkki 0.3201**

[45.915, 62.875]

**Tulos**

54.395

**Esimerkki 0.3202**

[49.279, 233.494, 143.952, 172.033, 89.735, 10.91, 189.447, 156.855]

**Tulos**

130.713

**Esimerkki 0.3203**

[103.006, 88.714, 216.915, 48.578]

**Tulos**

114.303

**Esimerkki 0.3204**

[23.747, 213.883, -93.772, 199.027, 204.052, 53.768]

**Tulos**

100.118

**Esimerkki 0.3205**

[246.278, 103.84, 214.867, -73.466, 230.048, -72.322, 172.891, 212.306, -78.335, 122.406]

**Tulos**

107.851

**Esimerkki 0.3206**

[75.467, -43.62]

**Tulos**

15.924

**Esimerkki 0.3207**

[-52.345, 127.618]

**Tulos**

37.636

**Esimerkki 0.3208**

[164.048, 94.225, 164.003, -19.198, 47.156, 4.59, 170.668, 156.371, -13.172, -27.61]

**Tulos**

74.108

**Esimerkki 0.3209**

[-39.5, 102.75, -38.984, 62.36, 65.589, 240.819, 134.869, 157.49]

**Tulos**

85.674

**Esimerkki 0.3210**

[45.676, 108.309, 164.871]

**Tulos**

106.285

**Esimerkki 0.3211**

[165.757, 109.854]

**Tulos**

137.806

**Esimerkki 0.3212**

[228.745, -37.525]

**Tulos**

95.61

**Esimerkki 0.3213**

[187.081, 249.663, 163.244, 80.247]

**Tulos**

170.059

**Esimerkki 0.3214**

[41.212, 221.072, 226.666, 3.688, 180.239, 142.767, 184.012, 63.249]

**Tulos**

132.863

**Esimerkki 0.3215**

[13.43, 82.541, 93.397, 132.691, -35.29, 87.468, 47.946, -1.68]

**Tulos**

52.563

**Esimerkki 0.3216**

[-6.648, 235.825, 71.3, 74.263, 36.113, 50.775, 55.119, 223.542]

**Tulos**

92.536

**Esimerkki 0.3217**

[157.792, -49.364, -85.505, -85.29, -26.457, 128.611]

**Tulos**

6.631

**Esimerkki 0.3218**

[-35.507, 123.597, -55.222, 27.047, 42.631, 165.593, 96.172, -9.645, 6.352, 121.066]

**Tulos**

48.208

**Esimerkki 0.3219**

[249.605, 77.203, -51.328, 202.998, 45.449, 139.281, -42.166]

**Tulos**

88.72

**Esimerkki 0.3220**

[62.126, 154.039, 21.996, 69.461, -37.574, -99.337, 59.409]

**Tulos**

32.874

**Esimerkki 0.3221**

[144.557, -51.368, 68.403]

**Tulos**

53.864

**Esimerkki 0.3222**

[-71.939, -11.035, 40.708, 197.891, 138.006, 164.289, 28.858, 127.368]

**Tulos**

76.768

**Esimerkki 0.3223**

[188.531, 203.662, -68.638]

**Tulos**

107.852

**Esimerkki 0.3224**

[137.954, 68.13, 125.791, 180.121, 28.583]

**Tulos**

108.116

**Esimerkki 0,3225**

[60.355, -83.762, 246.318, 218.32, 54.829, -78.388, 215.946, -94.467]

**Tulos**

67.394

**Esimerkki 0.3226**

[185.65, 59.931, 2.895, -90.678, 23.13, 102.002, 146.218, -5.314, -39.25]

**Tulos**

42.732

**Esimerkki 0.3227**

[158.786, 36.01]

**Tulos**

97.398

**Esimerkki 0.3228**

[112.875, 125.128, -76.961, 16.452]

**Tulos**

44.373

**Esimerkki 0.3229**

[-10.268, 120.978, 140.457, 242.04, 227.039]

**Tulos**

144.049

**Esimerkki 0.3230**

[-51.128, 79.354, 150.078, 125.395]

**Tulos**

75.925

**Esimerkki 0.3231**

[199.39, 166.408, 103.51, 148.207, -35.424, 124.444, -92.572, 19.52, 62.361]

**Tulos**

77.316

**Esimerkki 0.3232**

[-25.724, 188.105, 55.23, 211.492, 233.762]

**Tulos**

132.573

**Esimerkki 0.3233**

[106.396, 20.655, 78.744, 111.906]

**Tulos**

79.425

**Esimerkki 0.3234**

[-63.025, -72.225, 75.844, 50.867, -77.069, 192.143, 34.838]

**Tulos**

20.196

**Esimerkki 0,3235**

[65.735, -8.202, 203.181, 71.57, -48.851, -17.165, 172.465, -97.079]

**Tulos**

42.707

**Esimerkki 0.3236**

[93.433, 148.366, 19.269]

**Tulos**

87.023

**Esimerkki 0.3237**

[249.297, -37.084]

**Tulos**

106.106

**Esimerkki 0.3238**

[3.573, 180.339, 145.997, -59.119, 183.85]

**Tulos**

90.928

**Esimerkki 0.3239**

[153.723, 20.213, 185.644, 162.271, 132.806, 231.388, 157.011, -11.903, 171.249]

**Tulos**

133.6

**Esimerkki 0.3240**

[44.012, -87.249, -23.593, 127.828, 186.361]

**Tulos**

49.472

**Esimerkki 0.3241**

[63.559, 115.27, 50.132, 126.874, 241.377, 249.212]

**Tulos**

141.071

**Esimerkki 0.3242**

[29.77, 19.24, 231.795, 175.293, -7.304, 206.231, -29.028, 184.234, 129.873, -79.392]

**Tulos**

86.071

**Esimerkki 0.3243**

[-59.409, 11.318, 60.798, 73.485, 72.784, -16.016, -33.438, -73.826, 66.933, -59.474]

**Tulos**

4.316

**Esimerkki 0.3244**

[-87.384, 56.271, 1.857, -62.771, 27.371, 206.537, 63.119, -12.386]

**Tulos**

24.077

**Esimerkki 0,3245**

[137.612, -54.543]

**Tulos**

41.534

**Esimerkki 0.3246**

[-38.144, -19.07, 161.667, -64.299, 12.535]

**Tulos**

10.538

**Esimerkki 0.3247**

[140.849, 113.06, 64.078, 194.793, -43.06, -28.691, 63.977]

**Tulos**

72.144

**Esimerkki 0.3248**

[-47.619, -27.573, 73.321, -2.999, 103.788, 127.706, 7.672, -72.728, 160.33, -57.847]

**Tulos**

26.405

**Esimerkki 0.3249**

[39.001, -7.93, -24.846, 12.843, -99.669, 155.753, -31.938, -4.944, 40.092, -19.188]

**Tulos**

5.917

**Esimerkki 0,3250**

[34.999, -78.799, 65.027, 240.998, -11.399]

**Tulos**

50.165

**Esimerkki 0.3251**

[107.201, 20.191, 238.887, 237.174, 52.537, 99.85, 214.946]

**Tulos**

138.684

**Esimerkki 0.3252**

[139.608, 17.516, 100.5, -51.362, 57.462, -77.569, -95.41, -24.339, -96.579]

**Tulos**

-3.353

**Esimerkki 0.3253**

[77.47, 51.258]

**Tulos**

64.364

**Esimerkki 0.3254**

[46.232, -40.854]

**Tulos**

2.689

**Esimerkki 0,3255**

[-61.032, 89.058, 53.196]

**Tulos**

27.074

**Esimerkki 0.3256**

[-17.106, 23.8, -54.195, 233.82, -99.732, -68.488, 215.616]

**Tulos**

33.388

**Esimerkki 0.3257**

[207.476, -80.931, -15.605, -15.357, 173.462, -61.739, 249.542, -96.57, -46.58]

**Tulos**

34.855

**Esimerkki 0.3258**

[-21.918, -66.906]

**Tulos**

-44.412

**Esimerkki 0.3259**

[228.441, 187.318, 149.618, 139.523, 206.938, -84.668, 180.046, 118.108]

**Tulos**

140.666

**Esimerkki 0.3260**

[-7.89, 155.886]

**Tulos**

73.998

**Esimerkki 0.3261**

[66.612, 66.507, 215.587, 188.831, -74.681, 223.979, 148.364, 28.922]

**Tulos**

108.015

**Esimerkki 0.3262**

[209.07, -12.279, 232.871, 61.716, 203.586, -27.514]

**Tulos**

111.242

**Esimerkki 0.3263**

[-12.257, -2.874, 73.876, -68.286, 54.744, 123.908, 151.117, -62.612, -60.958, 91.189]

**Tulos**

28.785

**Esimerkki 0.3264**

[119.95, 74.627, -41.166]

**Tulos**

51.137

**Esimerkki 0,3265**

[213.907, 5.876, 223.355, 89.641, -68.368, -44.512, 248.192]

**Tulos**

95.442

**Esimerkki 0.3266**

[169.836, 70.504, -68.824, -75.479, 112.803, -99.455]

**Tulos**

18.231

**Esimerkki 0.3267**

[214.433, 229.507, 126.45, 124.396, -41.413, 43.572, 165.134]

**Tulos**

123.154

**Esimerkki 0.3268**

[199.728, -96.25, -77.714]

**Tulos**

8.588

**Esimerkki 0.3269**

[76.436, 89.984]

**Tulos**

83.21

**Esimerkki 0.3270**

[-19.34, -22.776]

**Tulos**

-21.058

**Esimerkki 0.3271**

[-77.402, 144.432, 172.214, 113.465, 183.224, 169.995, -86.506, 66.308]

**Tulos**

85.716

**Esimerkki 0.3272**

[-53.097, 130.791, 218.881, 162.561, -20.497, 82.655, -64.567, 131.705, 79.607]

**Tulos**

74.227

**Esimerkki 0.3273**

[69.33, 192.836, 95.339]

**Tulos**

119.168

**Esimerkki 0.3274**

[78.459, 194.537, -6.872, -79.655, -18.061, 103.494, 44.622, 34.481, 220.585]

**Tulos**

63.51

**Esimerkki 0,3275**

[-13.531, 33.982, 156.309]

**Tulos**

58.92

**Esimerkki 0.3276**

[32.867, 135.03, 16.501, 185.876, 51.026, 80.945, 104.725, -28.137, 101.092, -89.811]

**Tulos**

59.011

**Esimerkki 0.3277**

[201.816, -9.972, 159.423, 203.688, 36.145, 78.098, 137.257]

**Tulos**

115.208

**Esimerkki 0.3278**

[38.4, 51.568, 111.387]

**Tulos**

67.118

**Esimerkki 0.3279**

[180.839, 80.242, -8.709, 222.655, 55.283, 75.411]

**Tulos**

100.954

**Esimerkki 0.3280**

[-87.973, 63.926, -52.186, -62.799, 112.047, 87.475, -45.29, 164.877, 197.484]

**Tulos**

41.951

**Esimerkki 0.3281**

[-80.318, 233.463, 47.034, 171.993]

**Tulos**

93.043

**Esimerkki 0.3282**

[19.96, 189.906, 247.19, 121.956, -1.653, -58.517, 79.039, 151.091, 26.034]

**Tulos**

86.112

**Esimerkki 0.3283**

[-38.942, -71.728, -87.409, 124.985, -32.166, 82.856]

**Tulos**

-3.734

**Esimerkki 0.3284**

[-92.234, -56.257, -84.266, 243.403, 164.164, 101.559, -36.511, -62.576, -44.091]

**Tulos**

14.799

**Esimerkki 0,3285**

[-27.297, -51.581, 46.026, -25.783, -26.542, 22.99, 228.991]

**Tulos**

23.829

**Esimerkki 0.3286**

[-89.26, 23.797, 193.061]

**Tulos**

42.533

**Esimerkki 0.3287**

[-15.171, -69.411, 7.713, 87.614, 215.547]

**Tulos**

45.258

**Esimerkki 0.3288**

[201.93, -81.809, -47.405, 5.489, 16.133]

**Tulos**

18.868

**Esimerkki 0.3289**

[160.228, -6.625, 240.76, 9.438, 173.513]

**Tulos**

115.463

**Esimerkki 0.3290**

[47.595, -7.171, 4.333, 160.025, 152.275, 90.23, 128.643, 145.181]

**Tulos**

90.139

**Esimerkki 0.3291**

[100.339, 221.524, -85.213, 248.83]

**Tulos**

121.37

**Esimerkki 0.3292**

[-6.757, 191.311]

**Tulos**

92.277

**Esimerkki 0.3293**

[49.035, -81.115, 27.419]

**Tulos**

-1.554

**Esimerkki 0.3294**

[33.577, 128.324, -35.562, -35.041]

**Tulos**

22.825

**Esimerkki 0,3295**

[112.253, -69.001, 60.656, 21.124]

**Tulos**

31.258

**Esimerkki 0.3296**

[198.273, -2.503, 217.698, -50.731, -55.456, 158.491, -46.404, -82.953, 68.62]

**Tulos**

45.004

**Esimerkki 0.3297**

[42.538, 192.309, 225.613, -38.552, -60.662]

**Tulos**

72.249

**Esimerkki 0.3298**

[84.867, 7.92, 65.639, -58.685, 70.945]

**Tulos**

34.137

**Esimerkki 0.3299**

[-73.52, 24.465]

**Tulos**

-24.527

**Esimerkki 0.3300**

[141.324, 21.424]

**Tulos**

81.374

**Esimerkki 0.3301**

[194.026, 179.483, 77.885, 111.339, 234.419, 138.685]

**Tulos**

155.973

**Esimerkki 0.3302**

[-47.846, -29.413, 158.515, -49.593, 46.52, 47.865, -63.384]

**Tulos**

8.952

**Esimerkki 0.3303**

[78.918, 244.762, 232.825]

**Tulos**

185.502

**Esimerkki 0.3304**

[21.785, 214.08, -11.675, -22.846, -85.067, 144.987, -87.181, -1.324, 244.769, 41.187]

**Tulos**

45.872

**Esimerkki 0,3305**

[80.347, 61.158, 71.219, 219.439, 152.642, 153.907, 215.096, 179.864, 241.643, 138.374]

**Tulos**

151.369

**Esimerkki 0.3306**

[-91.51, 48.509, -91.921, 43.596, 64.909, -34.233]

**Tulos**

-10.108

**Esimerkki 0.3307**

[213.816, 178.027, 65.849, -91.646, 174.169, -12.033, 48.904, 148.142, 220.714, 218.252]

**Tulos**

116.419

**Esimerkki 0.3308**

[229.422, 171.388]

**Tulos**

200.405

**Esimerkki 0.3309**

[146.19, -36.785, 12.158, -7.871, 91.523]

**Tulos**

41.043

**Esimerkki 0.3310**

[226.982, 80.482, 220.959, -70.455, -34.905, -53.787, 218.616, 70.433, -53.24]

**Tulos**

67.232

**Esimerkki 0.3311**

[204.634, 176.221, 167.577, 217.281, 38.905, -60.3, -17.617, -69.258, -5.581]

**Tulos**

72.429

**Esimerkki 0.3312**

[-76.87, 149.531, -83.778, 11.617, 77.111, 42.523, -24.143, 123.225]

**Tulos**

27.402

**Esimerkki 0.3313**

[88.089, 229.23]

**Tulos**

158.659

**Esimerkki 0.3314**

[68.802, 203.777, 102.066, -14.825, -20.498, 173.24, 201.599]

**Tulos**

102.023

**Esimerkki 0.3315**

[235.483, -99.216, -13.978, 222.961, 225.497, 207.858]

**Tulos**

129.768

**Esimerkki 0.3316**

[12.999, 219.01, -2.502]

**Tulos**

76.502

**Esimerkki 0.3317**

[-10.746, -80.448, -16.398, -66.472]

**Tulos**

-43.516

**Esimerkki 0.3318**

[-13.739, 48.4, -25.661, 184.205, -59.52, 105.713, 120.169, 154.053, 30.726]

**Tulos**

60.483

**Esimerkki 0.3319**

[28.665, 112.251, 108.523, 90.44, 113.515, 67.927, -35.541, 58.205]

**Tulos**

67.998

**Esimerkki 0,3320**

[55.974, 24.673, 167.638]

**Tulos**

82.762

**Esimerkki 0,3321**

[198.475, -38.691]

**Tulos**

79.892

**Esimerkki 0.3322**

[204.235, -53.675, 201.303, 20.869]

**Tulos**

93.183

**Esimerkki 0.3323**

[-18.148, -95.894, 171.921, 110.288]

**Tulos**

42.042

**Esimerkki 0.3324**

[165.201, 95.09, -1.469, 59.4, 66.477, 124.442, 228.206]

**Tulos**

105.335

**Esimerkki 0,3325**

[157.669, 19.168, -39.343, -30.637]

**Tulos**

26.714

**Esimerkki 0,3326**

[204.239, 162.75, -27.965, 90.425, 147.912, 25.99, -22.763, 109.311]

**Tulos**

86.237

**Esimerkki 0.3327**

[-24.069, 49.942, -56.199, 147.337, 81.429, 198.62, -91.886, 33.842, -16.712, -51.661]

**Tulos**

27.064

**Esimerkki 0.3328**

[244.073, -45.997, 10.616, 55.952, 44.348, 120.284]

**Tulos**

71.546

**Esimerkki 0.3329**

[-42.16, -58.071, 148.805, 146.677, -61.711, -71.749, 233.782, -45.661, -87.345, 244.588]

**Tulos**

40.716

**Esimerkki 0,3330**

[66.157, 101.931, 182.713, -84.343, 109.572]

**Tulos**

75.206

**Esimerkki 0.3331**

[121.698, -70.886, 150.933, 233.596]

**Tulos**

108.835

**Esimerkki 0.3332**

[138.45, -5.481, 179.684, 147.54, 220.133, -36.663]

**Tulos**

107.277

**Esimerkki 0,3333**

[134.362, 95.641, 171.541, 167.562, 6.713, -22.782]

**Tulos**

92.173

**Esimerkki 0.3334**

[136.816, 121.886, 38.032, 81.322, -0.781, 112.95, 49.478, 219.21, -42.397]

**Tulos**

79.613

**Esimerkki 0,3335**

[71.005, 83.808, 237.969, 242.406, 159.984]

**Tulos**

159.034

**Esimerkki 0,3336**

[206.429, -12.258, -80.864, 165.434, 37.409, -39.683]

**Tulos**

46.078

**Esimerkki 0.3337**

[17.002, 179.236, 60.396, 98.09]

**Tulos**

88.681

**Esimerkki 0.3338**

[190.848, 71.483, 9.945, -24.166, -1.259, 35.005]

**Tulos**

46.976

**Esimerkki 0.3339**

[70.553, 193.054, 166.173, 115.812]

**Tulos**

136.398

**Esimerkki 0,3340**

[80.285, 75.631, 5.715, -68.695, 134.225, 22.744, 63.203, 136.862, 60.995]

**Tulos**

56.774

**Esimerkki 0.3341**

[51.588, 214.41, -79.895, 136.258]

**Tulos**

80.59

**Esimerkki 0.3342**

[116.303, 197.831, -2.29]

**Tulos**

103.948

**Esimerkki 0.3343**

[4.951, 111.209, 212.011, 136.356, -25.242, 107.114, -87.243, 95.788, 112.183, 137.557]

**Tulos**

80.468

**Esimerkki 0.3344**

[229.872, 237.968, -99.442, 0.827]

**Tulos**

92.306

**Esimerkki 0,3345**

[-89.335, -64.615, 150.149, 29.267, -38.363, 126.852, 81.583, 48.857]

**Tulos**

30.549

**Esimerkki 0.3346**

[110.168, -58.14]

**Tulos**

26.014

**Esimerkki 0.3347**

[-47.149, 179.576, 213.872, 194.266, 224.544, 231.81, -58.978, -8.96]

**Tulos**

116.123

**Esimerkki 0.3348**

[38.147, 107.393, 32.508, -49.93, 43.422, 128.625, -54.892]

**Tulos**

35.039

**Esimerkki 0.3349**

[157.69, 64.358, 111.954, 3.724, 111.586, 238.595, -23.489]

**Tulos**

94.917

**Esimerkki 0,3350**

[-63.878, 1.247]

**Tulos**

-31.316

**Esimerkki 0.3351**

[102.553, 221.594, -69.406, 192.534, 139.703, -38.208, 228.963, 32.921]

**Tulos**

101.332

**Esimerkki 0.3352**

[55.803, 91.52]

**Tulos**

73.661

**Esimerkki 0.3353**

[-51.218, -88.005, -60.468]

**Tulos**

-66.564

**Esimerkki 0.3354**

[-13.231, -33.838, -92.331, 189.969]

**Tulos**

12.642

**Esimerkki 0.3355**

[-16.151, -73.654]

**Tulos**

-44.902

**Esimerkki 0.3356**

[-75.585, 100.466, 173.612, -49.914, -3.926, 123.033, -41.309, 11.466, -27.853, 192.989]

**Tulos**

40.298

**Esimerkki 0.3357**

[25.689, 64.406, -82.868]

**Tulos**

2.409

**Esimerkki 0.3358**

[156.006, 228.209, 27.284, 101.578, 24.024, -33.438, 53.334, 13.327]

**Tulos**

71.29

**Esimerkki 0.3359**

[-67.742, -4.212]

**Tulos**

-35.977

**Esimerkki 0,3360**

[2.652, 242.189, 168.472, -18.422, 138.077, 128.549, 49.51]

**Tulos**

101.575

**Esimerkki 0.3361**

[-67.137, 28.093, 232.79, -1.292, 178.555, -80.323, 21.61, 49.346, -66.524]

**Tulos**

32.791

**Esimerkki 0.3362**

[139.696, -44.035, 56.719, 110.155, 129.67, 212.561]

**Tulos**

100.794

**Esimerkki 0.3363**

[38.093, 245.768, -60.478, -45.559, 65.303, 83.228, 51.989]

**Tulos**

54.049

**Esimerkki 0.3364**

[-50.326, 133.431, 41.941, 31.905, -20.627, -48.481]

**Tulos**

14.641

**Esimerkki 0,3365**

[-60.619, 42.623]

**Tulos**

-8.998

**Esimerkki 0.3366**

[-18.763, 211.572, 124.021, -2.526, -44.499, 75.194, 64.18, 62.486]

**Tulos**

58.958

**Esimerkki 0.3367**

[214.108, -10.35, 112.313, 53.317, 183.753, 245.498, 204.905, 68.753, 164.122]

**Tulos**

137.38

**Esimerkki 0.3368**

[215.087, 73.727, 216.959, 186.669, 53.779, 177.474, 79.12, 237.295, 109.343]

**Tulos**

149.939

**Esimerkki 0.3369**

[63.759, 221.556, 67.498, 150.469, 124.414, 249.244, 221.536]

**Tulos**

156.925

**Esimerkki 0,3370**

[50.54, 218.346, 19.804, 128.958, -69.364, 240.517, -80.18, 190.133, -25.446, 13.707]

**Tulos**

68.702

**Esimerkki 0,3371**

[121.069, 12.661, 159.825, -39.645, 6.609, 156.735, 110.054, 112.875]

**Tulos**

80.023

**Esimerkki 0.3372**

[194.082, -99.824, 124.507, -35.233, 165.552, 16.149, 212.049]

**Tulos**

82.469

**Esimerkki 0.3373**

[162.922, -4.429, 113.035, -71.728]

**Tulos**

49.95

**Esimerkki 0.3374**

[41.641, 226.325]

**Tulos**

133.983

**Esimerkki 0,3375**

[240.244, 248.235, 65.086]

**Tulos**

184.522

**Esimerkki 0.3376**

[237.082, -90.355, 19.413, -20.22, -10.93]

**Tulos**

26.998

**Esimerkki 0.3377**

[194.294, 48.25]

**Tulos**

121.272

**Esimerkki 0.3378**

[133.239, -64.924]

**Tulos**

34.158

**Esimerkki 0.3379**

[60.713, 134.394, 239.557, 110.813, -76.477]

**Tulos**

93.8

**Esimerkki 0.3380**

[180.373, 113.273, 211.986, -32.146]

**Tulos**

118.371

**Esimerkki 0.3381**

[136.21, 140.625]

**Tulos**

138.418

**Esimerkki 0.3382**

[78.686, -25.877, 89.769, -81.231, 72.704, 197.362]

**Tulos**

55.236

**Esimerkki 0.3383**

[23.361, 226.484, 197.413, 169.906]

**Tulos**

154.291

**Esimerkki 0.3384**

[-53.435, 30.883, -66.85]

**Tulos**

-29.801

**Esimerkki 0,3385**

[21.445, -36.626, 184.86, 72.243, 229.642, -85.168, 133.183, 9.889, 222.113]

**Tulos**

83.509

**Esimerkki 0.3386**

[75.248, 143.848, 158.987, 84.358, -71.023, 95.694, 201.945, 159.921]

**Tulos**

106.122

**Esimerkki 0.3387**

[29.811, 138.926, 3.158, 225.166, 71.684, -60.198, 21.399]

**Tulos**

61.421

**Esimerkki 0.3388**

[188.961, -66.908, -81.982, 103.335, 3.363, 83.717]

**Tulos**

38.414

**Esimerkki 0.3389**

[194.77, 17.094, 197.772, 116.223, 179.51, 62.189, 73.181, 189.435, 233.422, -30.843]

**Tulos**

123.275

**Esimerkki 0,3390**

[145.697, -40.957, -46.926, -55.065, 177.211, 204.811, -94.192, -47.466]

**Tulos**

30.389

**Esimerkki 0.3391**

[30.224, 63.76, 96.876, 149.052, -38.974, 48.35, 133.493, 142.787, 10.958]

**Tulos**

70.725

**Esimerkki 0.3392**

[-61.676, 49.748, -32.925, -41.279, 88.032, 13.702]

**Tulos**

2.6

**Esimerkki 0.3393**

[211.229, 29.427, 35.939, -45.643]

**Tulos**

57.738

**Esimerkki 0.3394**

[-66.407, 201.345, 121.728, -72.505, 65.694, 204.744, 23.038]

**Tulos**

68.234

**Esimerkki 0,3395**

[129.656, -24.537, 154.065, -35.645, -87.362, 0.345, 209.304]

**Tulos**

49.404

**Esimerkki 0.3396**

[-1.971, 192.98]

**Tulos**

95.504

**Esimerkki 0,3397**

[128.007, -8.497]

**Tulos**

59.755

**Esimerkki 0.3398**

[-11.673, 4.256, 189.757, 221.758, 152.249]

**Tulos**

111.269

**Esimerkki 0.3399**

[87.234, -30.861, 221.46, 120.15, -85.065, 67.024, 144.174, -64.546]

**Tulos**

57.446

**Esimerkki 0.3400**

[-78.496, -66.346, 71.71]

**Tulos**

-24.377

**Esimerkki 0.3401**

[221.528, -3.778]

**Tulos**

108.875

**Esimerkki 0.3402**

[79.329, -74.044, 115.238, 117.905, -62.622, 59.227, 52.75]

**Tulos**

41.112

**Esimerkki 0.3403**

[-77.226, 44.49]

**Tulos**

-16.368

**Esimerkki 0.3404**

[10.021, 186.507, 41.5]

**Tulos**

79.343

**Esimerkki 0.3405**

[-83.175, -58.082, -44.737, 226.0, 148.21, 120.237, -6.499, 167.991, 202.312]

**Tulos**

74.695

**Esimerkki 0.3406**

[-37.487, 10.205, 174.167, 19.088, 207.842, -90.906, 187.866, -82.405]

**Tulos**

48.546

**Esimerkki 0.3407**

[64.153, 134.288, -51.52]

**Tulos**

48.974

**Esimerkki 0.3408**

[-55.441, 134.77, -90.206, 182.072, 47.617, -33.612, 221.137, 87.482]

**Tulos**

61.727

**Esimerkki 0.3409**

[199.974, 2.205, 197.996, 172.426, 182.153, 42.045, 53.238, 18.021, 83.903]

**Tulos**

105.773

**Esimerkki 0.3410**

[0.872, 13.005, 82.754, 94.817, 211.541, -81.096, 248.443]

**Tulos**

81.477

**Esimerkki 0.3411**

[94.752, 177.315, 120.347, 120.834, 147.504, -20.013, 28.803, 214.702, 15.244, -20.225]

**Tulos**

87.926

**Esimerkki 0.3412**

[-0.94, 84.933, 210.958, -7.889, 229.121, 163.704]

**Tulos**

113.314

**Esimerkki 0.3413**

[-84.257, 150.346, 115.489, 233.173, -21.974, -78.979, 60.098, 122.944, 41.603]

**Tulos**

59.827

**Esimerkki 0.3414**

[161.173, 92.04, 186.538, 204.564, 194.167, 133.613, 45.825]

**Tulos**

145.417

**Esimerkki 0.3415**

[125.092, 157.506, -65.407, 170.764, -67.776, 213.603]

**Tulos**

88.964

**Esimerkki 0.3416**

[113.626, 85.944, 91.318, 34.374, 166.521, 195.567, 171.298, -57.102, -40.545, 101.75]

**Tulos**

86.275

**Esimerkki 0.3417**

[-42.926, 63.621]

**Tulos**

10.348

**Esimerkki 0.3418**

[117.877, 132.169, 56.381, 30.113]

**Tulos**

84.135

**Esimerkki 0.3419**

[156.098, 201.827, 69.599, -98.683]

**Tulos**

82.21

**Esimerkki 0.3420**

[165.242, 50.738, -34.087, 77.742, -21.241, -4.541]

**Tulos**

38.976

**Esimerkki 0,3421**

[-8.6, 148.356, 21.188, 129.408, 189.687, -3.91, 102.347, -75.62, 103.278, 198.339]

**Tulos**

80.447

**Esimerkki 0.3422**

[-58.06, 174.833, 230.766]

**Tulos**

115.846

**Esimerkki 0.3423**

[-52.125, -29.243]

**Tulos**

-40.684

**Esimerkki 0.3424**

[155.723, 143.973, -89.725, -63.838, 82.645, -82.46, 119.929, 42.78, 230.62]

**Tulos**

59.961

**Esimerkki 0,3425**

[180.055, -96.513, -74.978, -22.121, -75.706]

**Tulos**

-17.853

**Esimerkki 0,3426**

[236.145, 2.261, -65.81, 165.401, 176.736, 199.472, 37.829, 141.305, 207.147]

**Tulos**

122.276

**Esimerkki 0.3427**

[-21.313, 57.774, 94.232, 82.474, -60.586, 190.687, 180.63]

**Tulos**

74.843

**Esimerkki 0.3428**

[124.16, 24.861]

**Tulos**

74.51

**Esimerkki 0.3429**

[43.723, 169.474, 182.09, -77.85, 13.739, 24.184, -37.482]

**Tulos**

45.411

**Esimerkki 0.3430**

[28.675, -53.102]

**Tulos**

-12.213

**Esimerkki 0,3431**

[179.836, 115.658, -58.613, 29.591, 198.709]

**Tulos**

93.036

**Esimerkki 0.3432**

[211.362, 232.509, -55.576, 30.299, 166.106, 227.931, 229.432, 27.968, -25.196]

**Tulos**

116.093

**Esimerkki 0,3433**

[119.218, 92.798, -70.939, -42.105, 12.344]

**Tulos**

22.263

**Esimerkki 0.3434**

[209.164, 234.315]

**Tulos**

221.74

**Esimerkki 0,3435**

[98.088, -32.364, 88.675, 46.433, 25.186, 100.009, 113.418, 14.702, -73.767, 1.445]

**Tulos**

38.182

**Esimerkki 0.3436**

[166.029, -82.901, 110.004, 224.045, 176.063, 64.636, 135.812, 44.925, 137.313]

**Tulos**

108.436

**Esimerkki 0.3437**

[120.851, -87.912, 63.802]

**Tulos**

32.247

**Esimerkki 0,3438**

[165.475, 0.169, 157.921, 103.792, -20.858, -20.668, 60.146]

**Tulos**

63.711

**Esimerkki 0.3439**

[-6.37, 245.198, 249.345, 94.793]

**Tulos**

145.742

**Esimerkki 0.3440**

[-42.207, -46.667, 171.095]

**Tulos**

27.407

**Esimerkki 0.3441**

[216.253, -82.066]

**Tulos**

67.093

**Esimerkki 0.3442**

[131.411, 161.606, 206.651, 7.559, 31.125, 58.299, 242.071, -50.712, 0.718]

**Tulos**

87.636

**Esimerkki 0.3443**

[175.55, -37.411, 206.709]

**Tulos**

114.949

**Esimerkki 0.3444**

[-20.155, -42.404]

**Tulos**

-31.28

**Esimerkki 0,3445**

[236.788, -67.805, 167.544, -44.744, -77.372, 116.16, 1.919, -52.538, 7.464, -57.925]

**Tulos**

22.949

**Esimerkki 0.3446**

[-76.179, 82.173]

**Tulos**

2.997

**Esimerkki 0.3447**

[-65.6, 214.501, -60.482, 183.69, 237.816]

**Tulos**

101.985

**Esimerkki 0.3448**

[207.596, -13.529]

**Tulos**

97.034

**Esimerkki 0.3449**

[113.853, -68.026, 98.666, 63.7, 73.864, 57.378, -45.286, 89.256, -75.555, 46.11]

**Tulos**

35.396

**Esimerkki 0,3450**

[165.942, -61.703, 148.797, 42.99, 219.157, 13.789, 79.301, -66.349, 29.626]

**Tulos**

63.506

**Esimerkki 0.3451**

[86.723, 64.487, -59.274, 239.54, -44.729, 53.632, 209.626, -83.67, 103.072]

**Tulos**

63.267

**Esimerkki 0.3452**

[27.229, 18.184, 58.893, -25.078, -77.073, 235.749, 121.24, 118.874]

**Tulos**

59.752

**Esimerkki 0.3453**

[-33.711, -36.057, 246.847, 91.06, 151.965, 10.053, 20.21]

**Tulos**

64.338

**Esimerkki 0.3454**

[169.922, 249.47, 142.453, -55.768, 155.357, 6.096, -95.702, 243.569, 31.11, -75.031]

**Tulos**

77.148

**Esimerkki 0,3455**

[181.615, 237.938, 100.237, 229.449, 219.442, 157.359, 78.05, -50.553, 246.052]

**Tulos**

155.51

**Esimerkki 0.3456**

[-83.71, 28.913, 11.0]

**Tulos**

-14.599

**Esimerkki 0.3457**

[208.192, -3.879, 81.774, 139.354]

**Tulos**

106.36

**Esimerkki 0.3458**

[113.021, 101.946, -14.79, -8.555, -59.095, -74.169, 80.193, 157.87, 26.321, -19.87]

**Tulos**

30.287

**Esimerkki 0.3459**

[72.594, 168.59, -54.46, 46.88, 125.084]

**Tulos**

71.738

**Esimerkki 0,3460**

[-31.29, 31.03]

**Tulos**

-0.13

**Esimerkki 0.3461**

[97.557, -40.725]

**Tulos**

28.416

**Esimerkki 0.3462**

[109.113, 221.094, -2.767, 126.055, -4.845, -16.356, 221.354, 17.508, -33.086, 132.051]

**Tulos**

77.012

**Esimerkki 0.3463**

[-30.77, 228.314, 131.048, 202.916]

**Tulos**

132.877

**Esimerkki 0.3464**

[-95.761, 62.588, 226.51, 119.64, 127.272]

**Tulos**

88.05

**Esimerkki 0,3465**

[49.022, 98.152, -68.506, 190.122]

**Tulos**

67.198

**Esimerkki 0.3466**

[204.241, -12.158, 204.326, 79.389, 76.223, 38.435, 219.868, 12.41, 181.717]

**Tulos**

111.606

**Esimerkki 0.3467**

[193.404, 201.757, 196.22, 170.051, -15.837]

**Tulos**

149.119

**Esimerkki 0.3468**

[55.089, -43.122, 188.906]

**Tulos**

66.958

**Esimerkki 0.3469**

[202.702, 69.457, -99.546, 108.519, 28.615]

**Tulos**

61.949

**Esimerkki 0,3470**

[173.593, 66.375, 5.581, 107.296, 177.574, 29.764, -9.889, 168.056, 198.412, 195.086]

**Tulos**

111.185

**Esimerkki 0.3471**

[-48.134, 206.609, -20.414]

**Tulos**

46.02

**Esimerkki 0.3472**

[-76.564, 162.19, -62.017, 61.191]

**Tulos**

21.2

**Esimerkki 0.3473**

[0.019, 63.188, 93.403, 160.256, -16.151, 67.104, 224.302]

**Tulos**

84.589

**Esimerkki 0.3474**

[215.854, -43.532, 51.416]

**Tulos**

74.579

**Esimerkki 0,3475**

[155.346, -39.938, 179.964, -64.382, -97.582, -60.281, 12.876, 58.885, -13.011, 171.559]

**Tulos**

30.344

**Esimerkki 0.3476**

[-23.309, -38.568]

**Tulos**

-30.938

**Esimerkki 0.3477**

[-10.77, 151.741, 149.095, -67.249, -50.444, 168.522, 181.723, 163.444]

**Tulos**

85.758

**Esimerkki 0.3478**

[162.754, -8.002, 238.908, -73.935, 140.445, -5.391]

**Tulos**

75.796

**Esimerkki 0.3479**

[-56.794, 59.597, 56.311, 79.049, 211.553, 106.134, 142.826]

**Tulos**

85.525

**Esimerkki 0.3480**

[231.639, -87.0, 145.362]

**Tulos**

96.667

**Esimerkki 0.3481**

[91.045, 234.572, 89.422, 184.631, 30.183, 51.847, -52.049, -69.077, 108.626, 106.619]

**Tulos**

77.582

**Esimerkki 0.3482**

[201.298, 226.103, -41.559, 82.924]

**Tulos**

117.191

**Esimerkki 0.3483**

[235.574, 0.607, 167.596, 31.314, -52.565]

**Tulos**

76.505

**Esimerkki 0.3484**

[197.152, -4.379, -5.78, 121.353, 98.321, 238.091]

**Tulos**

107.46

**Esimerkki 0,3485**

[-99.355, -3.837, 155.693, 130.002, 4.319, 184.828, 199.546]

**Tulos**

81.599

**Esimerkki 0.3486**

[120.548, 104.355, 182.892, 208.827, 78.301, 176.671, 113.25, -33.999, 207.334]

**Tulos**

128.687

**Esimerkki 0.3487**

[118.975, 52.969, 166.946, 221.063, -71.92]

**Tulos**

97.607

**Esimerkki 0.3488**

[14.759, 72.833, -16.152, 36.847, -19.054, 182.911, -83.998, -7.533, -50.458]

**Tulos**

14.462

**Esimerkki 0.3489**

[182.215, -79.96, -8.654, 166.201, 50.162]

**Tulos**

61.993

**Esimerkki 0,3490**

[151.105, -63.975, 232.671, 86.95, 77.15, 218.299, 107.023, 92.972]

**Tulos**

112.774

**Esimerkki 0.3491**

[-61.513, 183.183, 185.709, 179.801, 194.827, 91.62, 229.939, -7.981, 123.813, -77.981]

**Tulos**

104.142

**Esimerkki 0.3492**

[236.886, 169.606, 246.276, 243.852]

**Tulos**

224.155

**Esimerkki 0.3493**

[166.762, -42.723, -31.256, 206.5]

**Tulos**

74.821

**Esimerkki 0.3494**

[-31.252, 246.934, 96.512, 19.356, -50.759, 134.528, 176.914, 17.007, 171.802]

**Tulos**

86.782

**Esimerkki 0,3495**

[-32.31, 239.275, 136.79, 31.099, -54.56, -33.907, 19.999]

**Tulos**

43.769

**Esimerkki 0.3496**

[40.841, 73.133, 153.316, 239.076, -44.567, 142.629, -11.647, 150.54, 122.516, 125.602]

**Tulos**

99.144

**Esimerkki 0,3497**

[117.561, 50.858, 44.98, -8.855, 195.439, 229.462, 41.973, 141.443]

**Tulos**

101.608

**Esimerkki 0.3498**

[55.273, 205.068, 135.791, -49.691]

**Tulos**

86.61

**Esimerkki 0.3499**

[166.436, -30.281, 130.558, 146.677, 54.148, 115.868, 18.961, 219.443, 5.878, -82.861]

**Tulos**

74.483

**Esimerkki 0,3500**

[39.541, 164.143]

**Tulos**

101.842

**Esimerkki 0.3501**

[162.805, 41.202]

**Tulos**

102.004

**Esimerkki 0.3502**

[-34.604, 142.506]

**Tulos**

53.951

**Esimerkki 0.3503**

[108.765, -52.115, 6.104]

**Tulos**

20.918

**Esimerkki 0.3504**

[2.737, -21.279, -99.368, 87.158, 113.644, 114.376, -4.483]

**Tulos**

27.541

**Esimerkki 0,3505**

[183.473, -80.316, -30.328, 56.767, -57.165, 125.981, -74.7, 58.898, 131.679]

**Tulos**

34.921

**Esimerkki 0.3506**

[205.698, 29.995, 227.177, 130.504, -27.235, 38.106, -95.191]

**Tulos**

72.722

**Esimerkki 0.3507**

[43.896, 220.338]

**Tulos**

132.117

**Esimerkki 0.3508**

[-0.625, 228.179]

**Tulos**

113.777

**Esimerkki 0.3509**

[236.276, 41.64, 208.982, 159.946, -96.569, 189.959, -40.212, 20.655, -96.342, -53.74]

**Tulos**

57.06

**Esimerkki 0,3510**

[239.944, 88.069, -6.963, 134.104]

**Tulos**

113.788

**Esimerkki 0.3511**

[104.617, 66.885, 222.557, -9.248, 30.932]

**Tulos**

83.149

**Esimerkki 0.3512**

[219.336, -29.108, -41.612, 105.709]

**Tulos**

63.581

**Esimerkki 0.3513**

[31.173, 213.81]

**Tulos**

122.492

**Esimerkki 0.3514**

[209.391, -20.297, -96.97, 245.149, 236.303, 36.406, -16.209, 93.283, -80.945, 75.328]

**Tulos**

68.144

**Esimerkki 0,3515**

[91.594, -42.447, 221.845, 129.556, 34.139, -39.215, -68.586]

**Tulos**

46.698

**Esimerkki 0.3516**

[-99.569, -1.338, 191.574, 164.294, 208.852, 242.061]

**Tulos**

117.646

**Esimerkki 0.3517**

[166.004, -89.509]

**Tulos**

38.247

**Esimerkki 0.3518**

[-30.529, 129.329, 69.69]

**Tulos**

56.163

**Esimerkki 0.3519**

[108.822, 139.139, 130.938, 100.996, 155.361, 8.752, 221.639, -12.877]

**Tulos**

106.596

**Esimerkki 0,3520**

[-88.234, 220.691, 116.056, 148.231, 68.146, 82.137, 221.82, 200.488, 80.729]

**Tulos**

116.674

**Esimerkki 0,3521**

[106.79, 30.901]

**Tulos**

68.846

**Esimerkki 0,3522**

[-25.38, 150.835, -50.995, 168.105, 191.063, -80.352, 5.022, -30.642, 209.014, 174.176]

**Tulos**

71.085

**Esimerkki 0.3523**

[-69.129, 32.725, -53.323, -4.397, 72.336]

**Tulos**

-4.358

**Esimerkki 0,3524**

[-91.111, 124.066, 70.268, -6.558, -5.658, -81.924, 238.639, 248.189]

**Tulos**

61.989

**Esimerkki 0,3525**

[41.255, 172.953, 208.644]

**Tulos**

140.951

**Esimerkki 0,3526**

[77.999, -51.028, 55.312, 144.582, 192.078, -3.162, 49.859]

**Tulos**

66.52

**Esimerkki 0,3527**

[-34.917, -76.301, 70.253]

**Tulos**

-13.655

**Esimerkki 0.3528**

[-67.456, 19.727, 170.816, 47.046, -34.967, 114.317, -66.564]

**Tulos**

26.131

**Esimerkki 0.3529**

[136.464, 209.582]

**Tulos**

173.023

**Esimerkki 0,3530**

[-42.791, 57.161, 67.729, 9.2, 0.749, 14.042, 79.452, 65.156, 89.3, 34.715]

**Tulos**

37.471

**Esimerkki 0,3531**

[-69.698, 181.415, -43.045, 160.857]

**Tulos**

57.382

**Esimerkki 0,3532**

[156.41, 19.521, 110.08, -59.009, 49.787, 243.748, -25.285, -71.104, 131.859, -70.207]

**Tulos**

48.58

**Esimerkki 0,3533**

[159.381, -84.046]

**Tulos**

37.668

**Esimerkki 0,3534**

[146.01, 72.871, 207.695, -63.833, 13.201, 231.713, 173.995]

**Tulos**

111.665

**Esimerkki 0,3535**

[-31.071, 221.836, 43.298, 169.798]

**Tulos**

100.965

**Esimerkki 0.3536**

[1.52, 222.622, -73.039, 29.436, 32.305, 45.003]

**Tulos**

42.975

**Esimerkki 0.3537**

[153.418, 178.596]

**Tulos**

166.007

**Esimerkki 0,3538**

[200.982, 179.659, 46.905, 146.598, 233.391, 0.725, 132.239, 12.274, 207.432, 216.78]

**Tulos**

137.698

**Esimerkki 0.3539**

[13.828, 155.859, 207.974, -44.32, 120.722, 115.533, -23.042, 41.755, 76.642]

**Tulos**

73.883

**Esimerkki 0,3540**

[166.175, 59.939, 4.039, 162.722, -6.531, 109.488]

**Tulos**

82.639

**Esimerkki 0,3541**

[54.838, 54.884, -49.76, 44.127, 207.55, -64.738, 102.633, 240.723, 160.019]

**Tulos**

83.364

**Esimerkki 0.3542**

[-51.709, 7.971, 56.819, 147.653, 82.016, 33.283, 17.84, -45.317, 152.854, 6.908]

**Tulos**

40.832

**Esimerkki 0.3543**

[102.115, 237.034, 176.879, 29.401, -85.078, 225.883, 106.49, 242.128, 40.775, -18.185]

**Tulos**

105.744

**Esimerkki 0.3544**

[-25.444, 159.703, -47.66, 138.066, 72.006]

**Tulos**

59.334

**Esimerkki 0,3545**

[17.74, 37.84]

**Tulos**

27.79

**Esimerkki 0.3546**

[195.568, 224.242, -3.128, -94.397, 145.86]

**Tulos**

93.629

**Esimerkki 0.3547**

[23.221, -50.559, 41.948, 136.19]

**Tulos**

37.7

**Esimerkki 0.3548**

[-21.995, 30.635, -47.589]

**Tulos**

-12.983

**Esimerkki 0,3549**

[187.734, 92.73, 72.075, -59.81, 198.435, 116.894, 36.867]

**Tulos**

92.132

**Esimerkki 0,3550**

[169.737, 156.625]

**Tulos**

163.181

**Esimerkki 0.3551**

[-19.769, 147.929, -36.133, 201.287, 28.528, -6.089, 122.533, 127.892, -36.662]

**Tulos**

58.835

**Esimerkki 0.3552**

[150.951, 66.358, 18.362, -41.836, 52.778, -3.335, -69.374]

**Tulos**

24.843

**Esimerkki 0.3553**

[219.576, -88.392, 13.756, 68.58, 185.112, 157.111, -25.941, 116.677]

**Tulos**

80.81

**Esimerkki 0.3554**

[138.868, 199.042, 85.322, 130.225, 180.975]

**Tulos**

146.886

**Esimerkki 0,3555**

[194.113, 153.198, 24.68, 31.91, 77.671]

**Tulos**

96.314

**Esimerkki 0.3556**

[60.18, 96.454]

**Tulos**

78.317

**Esimerkki 0.3557**

[117.265, 30.02]

**Tulos**

73.642

**Esimerkki 0.3558**

[-37.523, 113.251, -69.447, 126.704]

**Tulos**

33.246

**Esimerkki 0.3559**

[60.389, -42.939, 93.726, -26.647, 153.065]

**Tulos**

47.519

**Esimerkki 0,3560**

[10.743, 140.022, -39.196, 124.093, 74.748, -88.085, -3.801]

**Tulos**

31.218

**Esimerkki 0.3561**

[165.49, 243.332, 79.089, -56.46, 184.586, 191.468, 80.397]

**Tulos**

126.843

**Esimerkki 0.3562**

[-52.364, 213.017, 247.348, 118.193, 220.782, 91.501]

**Tulos**

139.746

**Esimerkki 0.3563**

[-97.909, 214.745, 31.815, 155.561, -24.58, -32.405, 11.092, 6.17, -62.78, 24.142]

**Tulos**

22.585

**Esimerkki 0,3564**

[-82.995, 81.813, 168.177, 95.833, 8.212, 7.134, 154.025]

**Tulos**

61.743

**Esimerkki 0,3565**

[177.051, 222.493, 3.539, 73.215, 155.764, -68.21, 96.425]

**Tulos**

94.325

**Esimerkki 0,3566**

[67.083, 176.147, 155.385, 204.048, 247.357, 200.937, -6.19, 195.832, -87.09, 36.547]

**Tulos**

119.006

**Esimerkki 0,3567**

[-30.799, -64.686, -69.902, 119.235, 53.564, -51.703, 225.429, -78.343]

**Tulos**

12.849

**Esimerkki 0,3568**

[-60.388, 179.882, -60.874, 161.351, -1.738, 65.73, 2.086, -71.823]

**Tulos**

26.778

**Esimerkki 0.3569**

[88.079, -0.181, -14.222, -73.581, 18.433, -14.843]

**Tulos**

0.614

**Esimerkki 0,3570**

[-31.002, 218.225, -44.454, 86.173, 68.865, 207.24, 148.955, -94.882]

**Tulos**

69.89

**Esimerkki 0.3571**

[-12.877, -18.405, 190.095]

**Tulos**

52.938

**Esimerkki 0.3572**

[26.831, 39.528, 94.579, -30.43, 226.299, -24.453, -59.32]

**Tulos**

39.005

**Esimerkki 0,3573**

[-18.718, -36.75, 183.634, -16.734, 37.792, -30.623, 232.558, -78.37, 204.322]

**Tulos**

53.012

**Esimerkki 0.3574**

[64.991, 221.636, -32.654, 160.852, -48.12, 176.115, 223.483, 51.997, 99.053, -69.184]

**Tulos**

84.817

**Esimerkki 0,3575**

[47.009, 157.824, 193.279, 172.282]

**Tulos**

142.598

**Esimerkki 0.3576**

[227.846, 114.122, 162.119, 159.993, 164.422]

**Tulos**

165.7

**Esimerkki 0.3577**

[179.151, 227.996, 83.825, -76.177, 189.178, 180.917, 233.24, 57.713, -48.965]

**Tulos**

114.098

**Esimerkki 0.3578**

[121.051, 132.585]

**Tulos**

126.818

**Esimerkki 0.3579**

[46.333, -23.031, 146.127, 147.589, 176.837, 11.822, 72.171]

**Tulos**

82.55

**Esimerkki 0.3580**

[77.632, 117.728, -76.695, -14.361, 167.427, 147.697]

**Tulos**

69.905

**Esimerkki 0.3581**

[-63.411, 31.556, 97.032]

**Tulos**

21.726

**Esimerkki 0.3582**

[52.744, 72.439, 195.894, 113.07, 143.577, 11.742]

**Tulos**

98.244

**Esimerkki 0.3583**

[-98.361, -84.91]

**Tulos**

-91.636

**Esimerkki 0.3584**

[-87.652, 6.677]

**Tulos**

-40.488

**Esimerkki 0,3585**

[148.261, -51.308, -98.748, -41.832, 44.313, -41.042, -19.943]

**Tulos**

-8.614

**Esimerkki 0.3586**

[193.834, -45.858, 225.442, -60.124, 83.034, 177.578, 239.811, 78.765, 75.457]

**Tulos**

107.549

**Esimerkki 0.3587**

[40.841, 43.656, 169.652, 216.532, -15.841, 16.685, -15.805, -91.177, 98.947, -68.002]

**Tulos**

39.549

**Esimerkki 0.3588**

[154.713, 118.74, 99.073, 95.236, 174.227, 181.785, 124.121, 94.638]

**Tulos**

130.317

**Esimerkki 0.3589**

[-47.202, 46.442, 112.697, 111.578, 177.044, -71.157, 131.761]

**Tulos**

65.88

**Esimerkki 0,3590**

[159.028, 176.099, -33.266]

**Tulos**

100.62

**Esimerkki 0,3591**

[-18.869, 50.266, 91.882, 220.184, 191.82, 224.977, -48.069]

**Tulos**

101.742

**Esimerkki 0.3592**

[197.324, 184.672, 79.886, -64.186]

**Tulos**

99.424

**Esimerkki 0.3593**

[71.325, 51.239, 103.459, 63.351, -15.961, 196.869, 56.811]

**Tulos**

75.299

**Esimerkki 0,3594**

[226.034, -63.903, 119.0]

**Tulos**

93.71

**Esimerkki 0,3595**

[-19.64, 5.69, 102.211, 159.062, 7.744, 242.03, 141.431, 105.364, 40.338]

**Tulos**

87.137

**Esimerkki 0,3596**

[-30.66, 134.777, 39.637, -41.053, 60.502, -99.875, -32.055, 51.52, 216.645, 11.994]

**Tulos**

31.143

**Esimerkki 0,3597**

[49.923, -80.273, 65.813, 196.58, 130.786, 127.475, 27.349, 115.206, -55.19, 128.796]

**Tulos**

70.647

**Esimerkki 0.3598**

[31.042, 202.135]

**Tulos**

116.588

**Esimerkki 0.3599**

[-61.761, -14.678]

**Tulos**

-38.22

**Esimerkki 0,3600**

[-40.131, 124.89]

**Tulos**

42.38

**Esimerkki 0.3601**

[-88.738, 50.43, 74.104]

**Tulos**

11.932

**Esimerkki 0.3602**

[248.64, -31.226]

**Tulos**

108.707

**Esimerkki 0.3603**

[103.248, 183.858, -6.812, 18.919, 217.179, -95.592]

**Tulos**

70.133

**Esimerkki 0.3604**

[211.455, 178.535, -33.689, 57.265, 117.164, 174.601]

**Tulos**

117.555

**Esimerkki 0.3605**

[-11.185, 155.576, 158.21, 183.976, -62.539]

**Tulos**

84.808

**Esimerkki 0.3606**

[117.712, -36.612, -78.147, 243.298, 242.312, 126.511, 88.536, -90.895, 181.052, 117.98]

**Tulos**

91.175

**Esimerkki 0.3607**

[16.109, 150.522]

**Tulos**

83.316

**Esimerkki 0.3608**

[10.497, -53.988, -76.283, 119.274, 180.003, 128.249, 95.859, 184.641, 80.298]

**Tulos**

74.283

**Esimerkki 0.3609**

[181.293, -4.205, -58.6, 218.035, 90.889, 179.566, -18.358, 10.877, 113.731]

**Tulos**

79.248

**Esimerkki 0.3610**

[-97.395, 147.999, 119.038, 163.381, 137.866, 85.121, 39.073]

**Tulos**

85.012

**Esimerkki 0.3611**

[-78.143, 148.741, 215.279, 39.033, -32.046]

**Tulos**

58.573

**Esimerkki 0.3612**

[210.844, 196.464, 63.668, 0.606, 32.31, 16.871]

**Tulos**

86.794

**Esimerkki 0.3613**

[200.391, 96.999, 10.414]

**Tulos**

102.601

**Esimerkki 0.3614**

[26.035, 171.455, 205.166, 109.434, 57.196, 183.555, 196.368, 46.98]

**Tulos**

124.524

**Esimerkki 0.3615**

[-17.801, 16.455, 4.73]

**Tulos**

1.128

**Esimerkki 0.3616**

[182.641, -79.003, -79.257, 41.314, 201.125, -70.56, 204.51, 138.512]

**Tulos**

67.41

**Esimerkki 0.3617**

[-83.215, 70.308, -69.135]

**Tulos**

-27.347

**Esimerkki 0.3618**

[243.431, 215.316, 205.713, -92.249]

**Tulos**

143.053

**Esimerkki 0.3619**

[194.494, -74.816, 50.491, 191.016, -84.334, 172.04]

**Tulos**

74.815

**Esimerkki 0,3620**

[158.078, -10.918, 129.671]

**Tulos**

92.277

**Esimerkki 0,3621**

[-86.223, -72.035, 50.169, 168.611, -28.153, 178.994, 236.001, 108.387]

**Tulos**

69.469

**Esimerkki 0.3622**

[172.307, 72.066, 129.044, 87.711, 81.977]

**Tulos**

108.621

**Esimerkki 0.3623**

[225.962, -72.89, -78.365, 30.723, 3.536]

**Tulos**

21.793

**Esimerkki 0.3624**

[71.593, 223.205, -51.375, 145.529, 150.791]

**Tulos**

107.949

**Esimerkki 0,3625**

[72.369, 166.749, 213.343, 246.021, 190.294, -91.645, -31.149, 157.844]

**Tulos**

115.478

**Esimerkki 0,3626**

[21.568, -27.435, -51.543, -81.878, -35.834, 219.543, 203.308]

**Tulos**

35.39

**Esimerkki 0.3627**

[166.127, -53.754]

**Tulos**

56.187

**Esimerkki 0.3628**

[117.939, 21.985, 103.448, 205.365]

**Tulos**

112.184

**Esimerkki 0.3629**

[93.937, -35.013, 72.464, 41.474, 130.694, -11.735, 118.386, -25.055, 167.663, 157.493]

**Tulos**

71.031

**Esimerkki 0,3630**

[154.805, -99.136, 113.495, -58.447]

**Tulos**

27.679

**Esimerkki 0,3631**

[-82.17, 47.488]

**Tulos**

-17.341

**Esimerkki 0.3632**

[155.876, 75.226]

**Tulos**

115.551

**Esimerkki 0,3633**

[160.171, 133.389, 135.795, 42.862, 10.063, 62.897, 175.97, 133.965]

**Tulos**

106.889

**Esimerkki 0,3634**

[109.483, 235.126, 50.317, 161.768, -12.459, 102.281, 224.248, -27.499, 88.268, 209.2]

**Tulos**

114.073

**Esimerkki 0,3635**

[28.819, 144.067, -10.157, 190.992, -56.443, 73.656, -8.101]

**Tulos**

51.833

**Esimerkki 0.3636**

[-14.432, 63.849, -11.6, -2.03, -31.572, 130.986]

**Tulos**

22.534

**Esimerkki 0.3637**

[88.17, -95.795, 38.421, -18.644, 31.182, -91.278]

**Tulos**

-7.991

**Esimerkki 0,3638**

[-55.198, 36.097, 190.132]

**Tulos**

57.01

**Esimerkki 0.3639**

[-71.951, -1.97, 148.323, 151.675, 32.313, 178.55, -82.134, 170.977, 130.153]

**Tulos**

72.882

**Esimerkki 0,3640**

[-76.351, 51.621, 85.485, 77.139]

**Tulos**

34.474

**Esimerkki 0.3641**

[-11.767, -87.662, 136.049, 46.322, 53.541]

**Tulos**

27.297

**Esimerkki 0.3642**

[205.023, 77.894, -88.455, 0.627]

**Tulos**

48.772

**Esimerkki 0.3643**

[-72.542, 208.876]

**Tulos**

68.167

**Esimerkki 0.3644**

[201.083, 203.145, 85.923, 57.805, 72.352, 6.746]

**Tulos**

104.509

**Esimerkki 0,3645**

[102.825, 160.41, 240.97, 138.021]

**Tulos**

160.556

**Esimerkki 0.3646**

[218.0, -99.581, -53.244, -9.299, -32.178, 134.878, -45.933, 174.826]

**Tulos**

35.934

**Esimerkki 0.3647**

[184.946, 128.218, -47.333, 19.366, -50.465, 144.55]

**Tulos**

63.214

**Esimerkki 0.3648**

[131.954, -70.819, 111.342, 100.601, -43.788, 40.107, 83.884, 87.266]

**Tulos**

55.068

**Esimerkki 0.3649**

[-50.541, -85.395, 73.267, 32.785, 50.908, 29.898]

**Tulos**

8.487

**Esimerkki 0,3650**

[194.958, -2.753, -62.355, -49.697, 70.64, 200.719, -74.455]

**Tulos**

39.58

**Esimerkki 0.3651**

[74.612, 118.316, 223.579, -89.584, -3.216, -91.707, 90.744, 165.764, 232.485, -29.164]

**Tulos**

69.183

**Esimerkki 0.3652**

[45.965, 169.829, 169.201, 81.293, 7.549, 223.189, 220.534]

**Tulos**

131.08

**Esimerkki 0.3653**

[138.153, 51.567, -73.614]

**Tulos**

38.702

**Esimerkki 0.3654**

[-32.571, 128.55, -92.95, -75.275, 196.64, 181.068, -38.034, 192.871, -23.134, 8.658]

**Tulos**

44.582

**Esimerkki 0,3655**

[184.883, 31.746, 111.972, 67.031, 117.43, 32.534, 169.862, -51.339, 98.662]

**Tulos**

84.753

**Esimerkki 0.3656**

[-43.315, 171.94, 167.346, -98.347, 71.547, -53.132, 175.534, 61.487, 155.516, -59.787]

**Tulos**

54.879

**Esimerkki 0.3657**

[241.486, -13.877, 1.808, 200.765, 223.234, -42.449, 127.587, 78.763, -80.96, -58.717]

**Tulos**

67.764

**Esimerkki 0.3658**

[86.19, -0.695]

**Tulos**

42.748

**Esimerkki 0.3659**

[-64.444, 127.032, 230.129, 118.938, 74.084, 147.077, -79.149, -99.452, 22.993]

**Tulos**

53.023

**Esimerkki 0,3660**

[190.624, 208.116, 244.123, 11.008, 131.095, -92.15, 109.658, 133.804, 50.323]

**Tulos**

109.622

**Esimerkki 0.3661**

[205.535, -89.771, -80.797, 118.21, -89.594]

**Tulos**

12.717

**Esimerkki 0.3662**

[-14.717, 40.746, 82.075]

**Tulos**

36.035

**Esimerkki 0,3663**

[32.383, 25.49, 196.917, -33.413, 245.817]

**Tulos**

93.439

**Esimerkki 0,3664**

[192.154, 14.43, 239.993, 1.782, 89.479, 187.436, 219.279, 93.835]

**Tulos**

129.798

**Esimerkki 0,3665**

[196.405, -26.718]

**Tulos**

84.844

**Esimerkki 0.3666**

[-55.624, 186.05, 62.127, -21.197]

**Tulos**

42.839

**Esimerkki 0,3667**

[165.855, -46.253, 33.638, 0.607, 115.867, -80.438, 44.832, 127.015, 204.325, 154.151]

**Tulos**

71.96

**Esimerkki 0.3668**

[-48.087, 56.82, -0.249]

**Tulos**

2.828

**Esimerkki 0.3669**

[244.931, 222.43, 163.311, -57.783, -34.839, 142.405]

**Tulos**

113.409

**Esimerkki 0,3670**

[164.25, 170.676, 126.938, 102.143, -85.059, -6.895, 34.783]

**Tulos**

72.405

**Esimerkki 0,3671**

[6.661, 235.046, 172.65, -68.719, 215.995]

**Tulos**

112.327

**Esimerkki 0.3672**

[185.79, -37.447]

**Tulos**

74.172

**Esimerkki 0.3673**

[-26.659, -76.107, -52.964]

**Tulos**

-51.91

**Esimerkki 0.3674**

[73.052, 34.348]

**Tulos**

53.7

**Esimerkki 0,3675**

[29.833, 170.246, 222.43, -87.927, -70.09, 8.335, 90.479, -22.306]

**Tulos**

42.625

**Esimerkki 0.3676**

[163.76, 231.835, 67.267, 47.862, -56.846, 200.885]

**Tulos**

109.127

**Esimerkki 0.3677**

[138.366, 45.051, -83.27, 67.261, 70.098]

**Tulos**

47.501

**Esimerkki 0.3678**

[43.825, -53.18, 26.59, 185.709, 104.198]

**Tulos**

61.428

**Esimerkki 0.3679**

[22.656, -87.751, 78.046]

**Tulos**

4.317

**Esimerkki 0.3680**

[-82.094, 163.171, -35.384, 69.572]

**Tulos**

28.816

**Esimerkki 0.3681**

[153.399, 61.269, -88.044, -90.479, -13.236, -24.819]

**Tulos**

-0.318

**Esimerkki 0.3682**

[27.108, 247.344, 151.996, 178.085]

**Tulos**

151.133

**Esimerkki 0.3683**

[108.282, 206.584, 150.179, -53.828, 124.808, 233.622]

**Tulos**

128.274

**Esimerkki 0.3684**

[-84.527, 79.802, 199.903, 26.161, 115.518, 32.556, 97.527, 249.729, 127.751, 102.687]

**Tulos**

94.711

**Esimerkki 0,3685**

[-72.554, 9.809, 27.09, 190.698]

**Tulos**

38.761

**Esimerkki 0.3686**

[30.655, 87.356]

**Tulos**

59.006

**Esimerkki 0.3687**

[82.95, -4.761, 0.601, 234.426, 231.683, 88.53, 126.192]

**Tulos**

108.517

**Esimerkki 0.3688**

[-22.702, 29.378, 6.314, 3.461, 220.689, 189.379, 69.151, 213.582, 60.234, 35.064]

**Tulos**

80.455

**Esimerkki 0.3689**

[-60.641, 226.523, -60.154, 183.986]

**Tulos**

72.428

**Esimerkki 0,3690**

[-8.175, 90.283, 208.815, 85.007, -82.261]

**Tulos**

58.734

**Esimerkki 0,3691**

[215.934, -33.238, 32.705]

**Tulos**

71.8

**Esimerkki 0.3692**

[-12.713, 52.148, 221.074, 194.73, -19.277, -13.807, 114.31, 181.762, 247.685]

**Tulos**

107.324

**Esimerkki 0.3693**

[-28.295, 59.082, 185.826, -78.615, 48.391]

**Tulos**

37.278

**Esimerkki 0.3694**

[-52.28, 151.761, 101.292, 121.159, 10.621, 165.968, 10.761, -84.867, 150.813, 126.95]

**Tulos**

70.218

**Esimerkki 0,3695**

[172.614, 46.128, 219.08, -19.082, 92.393, -22.178, -67.633, 40.09]

**Tulos**

57.677

**Esimerkki 0,3696**

[-10.284, 29.323, 129.426, 159.127, 118.615, 104.019]

**Tulos**

88.371

**Esimerkki 0,3697**

[217.868, 100.747, 186.392, -90.949, 234.492, 121.106]

**Tulos**

128.276

**Esimerkki 0.3698**

[111.967, -82.897, 233.055]

**Tulos**

87.375

**Esimerkki 0.3699**

[-3.128, 210.53, 28.001, 169.242, 15.293, 88.9]

**Tulos**

84.806

**Esimerkki 0,3700**

[35.682, 21.673, 167.016, 90.953, 229.342, 240.03, -81.506, 244.785, 211.557]

**Tulos**

128.837

**Esimerkki 0.3701**

[62.233, -14.736, 39.03, 74.345, 18.393]

**Tulos**

35.853

**Esimerkki 0.3702**

[178.992, 227.102, 29.299, 28.348, 25.543, 175.501]

**Tulos**

110.798

**Esimerkki 0.3703**

[104.87, 1.894]

**Tulos**

53.382

**Esimerkki 0.3704**

[165.465, 128.131]

**Tulos**

146.798

**Esimerkki 0.3705**

[-87.24, 129.343]

**Tulos**

21.051

**Esimerkki 0.3706**

[-11.899, 221.549, -15.365, -51.412, 85.7, -75.45, -25.543, 237.229]

**Tulos**

45.601

**Esimerkki 0.3707**

[206.816, 74.717, -98.107, 29.157, -70.226, 52.995, -3.081]

**Tulos**

27.467

**Esimerkki 0.3708**

[-89.19, 247.125, -27.63]

**Tulos**

43.435

**Esimerkki 0.3709**

[162.136, -83.28]

**Tulos**

39.428

**Esimerkki 0,3710**

[-66.387, 135.639, 182.921, 175.573, 105.67, -29.751, 156.67, 83.119, 19.538]

**Tulos**

84.777

**Esimerkki 0.3711**

[-1.854, 229.667, 115.205, 89.778, -26.764, 220.005, -48.184, -35.545]

**Tulos**

67.788

**Esimerkki 0.3712**

[-85.928, 228.349, 129.061, 18.667, -88.64, 90.715, 7.149, 41.073, -0.009, -49.058]

**Tulos**

29.138

**Esimerkki 0.3713**

[203.935, -47.05, 7.383, 42.734, 211.077, -3.526]

**Tulos**

69.092

**Esimerkki 0.3714**

[231.852, 41.261, -53.891, 137.105, 12.72, 180.338, 159.849, 242.602, -3.445, 70.085]

**Tulos**

101.848

**Esimerkki 0,3715**

[126.231, 211.943, -67.216, 214.731]

**Tulos**

121.422

**Esimerkki 0.3716**

[-24.354, -96.876, 6.856, 97.97, 127.021, 52.377, 245.34]

**Tulos**

58.333

**Esimerkki 0.3717**

[134.987, 238.759, -58.041]

**Tulos**

105.235

**Esimerkki 0.3718**

[248.639, -23.762, 206.41, -58.963]

**Tulos**

93.081

**Esimerkki 0.3719**

[17.204, 202.765, 244.627, -20.782, 137.735, -35.481]

**Tulos**

91.011

**Esimerkki 0,3720**

[183.814, 241.2]

**Tulos**

212.507

**Esimerkki 0,3721**

[219.675, 152.31, 74.433, 218.243, 106.941, 25.977, 199.321, 119.022, 219.797, 245.448]

**Tulos**

158.117

**Esimerkki 0.3722**

[57.205, -33.98, 111.608, -83.731, 107.658]

**Tulos**

31.752

**Esimerkki 0.3723**

[-82.501, -99.665, 133.336, 126.104, -12.653, -23.215, 127.87, 23.473]

**Tulos**

24.094

**Esimerkki 0.3724**

[-6.125, 53.865, 204.244, 221.628, 62.119]

**Tulos**

107.146

**Esimerkki 0,3725**

[230.118, 62.129]

**Tulos**

146.124

**Esimerkki 0,3726**

[-9.235, 223.711]

**Tulos**

107.238

**Esimerkki 0,3727**

[-48.614, 147.591, 211.399]

**Tulos**

103.459

**Esimerkki 0,3728**

[188.797, -30.916]

**Tulos**

78.94

**Esimerkki 0,3729**

[-43.374, 10.936]

**Tulos**

-16.219

**Esimerkki 0,3730**

[118.212, 39.323, 78.428, 34.768, -42.228, 102.675, 206.803]

**Tulos**

76.854

**Esimerkki 0,3731**

[-88.818, -15.216, 85.505, 44.567, -91.393]

**Tulos**

-13.071

**Esimerkki 0,3732**

[-9.761, 132.62, 72.946, 4.588, -93.9]

**Tulos**

21.299

**Esimerkki 0,3733**

[198.943, 16.473, -44.865, 243.93, 111.699, 60.814, -89.371]

**Tulos**

71.089

**Esimerkki 0,3734**

[108.073, 38.855]

**Tulos**

73.464

**Esimerkki 0,3735**

[-56.22, 204.989, -35.251, -33.117, 110.167, 15.026]

**Tulos**

34.266

**Esimerkki 0.3736**

[114.888, 45.097, -68.575, 239.321, 47.876, 121.635]

**Tulos**

83.374

**Esimerkki 0.3737**

[55.865, 240.044, 196.085, 51.754, 162.689, 107.929, 11.781, 115.868]

**Tulos**

117.752

**Esimerkki 0,3738**

[173.164, -92.215, 230.455]

**Tulos**

103.801

**Esimerkki 0.3739**

[-11.211, 9.955, 208.942, 124.097, 118.282, 65.001]

**Tulos**

85.844

**Esimerkki 0,3740**

[-23.79, -14.831, 56.809, -41.071, 220.937, -87.035, 116.879, -22.936, 39.804, 96.279]

**Tulos**

34.105

**Esimerkki 0,3741**

[147.183, -49.187, 230.661]

**Tulos**

109.552

**Esimerkki 0.3742**

[186.717, 123.333, 169.052, -71.105, -87.187, 18.713, -8.019, 190.853, -69.826]

**Tulos**

50.281

**Esimerkki 0.3743**

[-46.619, 194.249, 227.508, -47.478, 140.403, -28.808, 94.726, -84.299]

**Tulos**

56.21

**Esimerkki 0.3744**

[226.185, 12.821, 114.546, 201.505, 225.492, 99.184, 222.264, 45.814]

**Tulos**

143.476

**Esimerkki 0,3745**

[156.426, 16.872, -4.654, -47.286]

**Tulos**

30.34

**Esimerkki 0.3746**

[-63.385, 42.584, -65.353, -20.816, 194.56, -46.15, 102.478, -81.403, 75.612, 177.171]

**Tulos**

31.53

**Esimerkki 0.3747**

[249.671, -12.816, 21.299, 8.341, 141.384, 64.552, 165.886]

**Tulos**

91.188

**Esimerkki 0.3748**

[-7.462, 97.261, -21.324, -10.676]

**Tulos**

14.45

**Esimerkki 0,3749**

[142.49, -33.203, -8.182]

**Tulos**

33.702

**Esimerkki 0,3750**

[111.725, 198.334, 138.375, 10.272, 111.717, 63.948, -1.108, 148.762, 215.813]

**Tulos**

110.871

**Esimerkki 0.3751**

[-21.669, -73.355, -99.121, 64.896]

**Tulos**

-32.312

**Esimerkki 0.3752**

[-90.909, 245.831]

**Tulos**

77.461

**Esimerkki 0.3753**

[-46.189, 122.469, -71.252, -73.617, 7.105, 122.457]

**Tulos**

10.162

**Esimerkki 0.3754**

[134.223, -5.071, 199.451, 83.215, 227.848, 225.195, 247.03]

**Tulos**

158.842

**Esimerkki 0,3755**

[41.718, 209.51, 138.536, 178.665, -64.037]

**Tulos**

100.878

**Esimerkki 0.3756**

[-48.29, 69.863, 221.488, 114.015, 198.296, 145.68, 13.512, 165.322]

**Tulos**

109.986

**Esimerkki 0.3757**

[15.491, 60.283, 240.958, 155.995, 35.585, -55.875, 82.379, 142.503, 95.176, 85.281]

**Tulos**

85.778

**Esimerkki 0.3758**

[-29.775, 103.455, -23.126, 49.95]

**Tulos**

25.126

**Esimerkki 0.3759**

[-94.756, 53.245, 226.287, -86.689, 63.893, 43.674]

**Tulos**

34.276

**Esimerkki 0,3760**

[158.197, 125.394, 249.532, 145.426, -38.449, -55.294, 24.725, 78.56, 180.519]

**Tulos**

96.512

**Esimerkki 0.3761**

[1.222, 33.339, 163.969]

**Tulos**

66.177

**Esimerkki 0.3762**

[185.805, 8.01, 151.056, 35.572, 51.884, 217.1, -0.547, 8.171]

**Tulos**

82.131

**Esimerkki 0.3763**

[-12.955, -31.004, 148.566]

**Tulos**

34.869

**Esimerkki 0,3764**

[186.671, 242.386, -65.119, -36.037]

**Tulos**

81.975

**Esimerkki 0,3765**

[123.361, -10.351, 34.114, 51.776]

**Tulos**

49.725

**Esimerkki 0,3766**

[201.059, -91.982, 34.307, 22.568, 181.399, -13.055, 220.963, 114.027, 128.754]

**Tulos**

88.671

**Esimerkki 0,3767**

[4.808, 205.011, 171.006, -83.794, 174.586, 239.34, -47.787, 15.572, 66.299]

**Tulos**

82.782

**Esimerkki 0,3768**

[103.307, 206.728, 237.322, 149.985]

**Tulos**

174.336

**Esimerkki 0.3769**

[62.673, -56.767, 98.915, -28.621, 95.871, 185.985, 34.333, 244.985]

**Tulos**

79.672

**Esimerkki 0,3770**

[-76.174, 92.009, 188.773, 215.466]

**Tulos**

105.018

**Esimerkki 0.3771**

[226.538, 249.881, 87.913, 108.247, 49.816, 12.151, 150.461]

**Tulos**

126.43

**Esimerkki 0.3772**

[-29.54, 204.237]

**Tulos**

87.348

**Esimerkki 0.3773**

[0.69, 48.641, -57.989, 0.381, 244.656, 41.286, 4.124]

**Tulos**

40.256

**Esimerkki 0.3774**

[214.306, 110.771]

**Tulos**

162.538

**Esimerkki 0,3775**

[248.169, 199.466]

**Tulos**

223.818

**Esimerkki 0.3776**

[-73.037, -76.301, 31.354, 39.428, -88.204]

**Tulos**

-33.352

**Esimerkki 0.3777**

[129.739, 59.856, 188.821, -63.548, -55.058, 153.335, -88.105, 94.101]

**Tulos**

52.393

**Esimerkki 0.3778**

[65.284, 46.191, 63.81, 13.748, 98.863, 189.362]

**Tulos**

79.543

**Esimerkki 0.3779**

[91.684, 39.617, -74.926, -92.674, -85.911, 211.766, -84.739]

**Tulos**

0.688

**Esimerkki 0.3780**

[239.067, 241.816, -52.098, 42.072, 13.685, 151.635, -30.844, -31.95]

**Tulos**

71.673

**Esimerkki 0.3781**

[87.629, -90.426, 248.383, -64.858, 67.942, -93.581, 7.873, 230.21, -76.575, 16.206]

**Tulos**

33.28

**Esimerkki 0.3782**

[-15.093, 123.615, -61.024, 139.291]

**Tulos**

46.697

**Esimerkki 0.3783**

[-26.29, 238.476, 82.716, 207.42, 115.114, 160.713, -43.172, 118.205]

**Tulos**

106.648

**Esimerkki 0.3784**

[-24.924, 213.701, 54.032]

**Tulos**

80.936

**Esimerkki 0,3785**

[193.742, 135.546, -27.097, 241.968, -83.213, 222.107, 80.495]

**Tulos**

109.078

**Esimerkki 0.3786**

[244.214, 101.096, 140.133]

**Tulos**

161.814

**Esimerkki 0.3787**

[64.523, 131.207, -30.223, -95.659]

**Tulos**

17.462

**Esimerkki 0.3788**

[123.364, 79.452, 240.318, 168.596]

**Tulos**

152.932

**Esimerkki 0.3789**

[18.08, 166.963, 187.434, 50.807, -19.266, 113.775, 4.423, 74.057, 166.081]

**Tulos**

84.706

**Esimerkki 0,3790**

[233.018, -85.207, 246.238, 217.62, 162.549, -92.137, -1.654, -17.538, -11.29]

**Tulos**

72.4

**Esimerkki 0,3791**

[140.577, 17.004, -23.097, 237.61, -34.132, 101.321, -78.007, 136.557]

**Tulos**

62.229

**Esimerkki 0.3792**

[48.699, 232.525]

**Tulos**

140.612

**Esimerkki 0.3793**

[-56.981, 36.769]

**Tulos**

-10.106

**Esimerkki 0.3794**

[-84.662, -43.609, 92.367, 245.742, 129.135, 238.401, 234.962, 246.221]

**Tulos**

132.32

**Esimerkki 0,3795**

[-84.948, 141.903, 172.802, 217.268]

**Tulos**

111.756

**Esimerkki 0,3796**

[241.472, 42.125, -92.855, 35.853, 185.609, 228.573, -67.395, -13.144, -53.452]

**Tulos**

56.31

**Esimerkki 0,3797**

[-81.301, -78.453, 187.627, -34.32, 183.625, 63.108, 63.464, -19.706]

**Tulos**

35.506

**Esimerkki 0.3798**

[-19.273, 114.945, -15.716, 108.77, -56.249, 159.262, 26.992, -43.847, 214.335]

**Tulos**

54.358

**Esimerkki 0.3799**

[119.493, 195.533, 116.23, 121.667, -13.247, 89.798, 233.993, 33.788]

**Tulos**

112.157

**Esimerkki 0.3800**

[202.94, 3.582, -24.344, 90.506, 139.485, -98.182, 211.305]

**Tulos**

75.042

**Esimerkki 0.3801**

[191.796, 24.742, 60.847, -55.812, -15.205, 210.884, 5.463, 84.361]

**Tulos**

63.384

**Esimerkki 0.3802**

[-74.139, -62.711, 83.1, 211.243, -2.696, 30.722, 79.262, 230.335]

**Tulos**

61.89

**Esimerkki 0.3803**

[100.915, 12.36]

**Tulos**

56.638

**Esimerkki 0.3804**

[102.524, 88.129, 196.972]

**Tulos**

129.208

**Esimerkki 0.3805**

[81.806, 201.553, 150.165, 89.324, -35.483]

**Tulos**

97.473

**Esimerkki 0.3806**

[199.874, -45.634, -39.343, 75.985, 143.35, 87.15, 120.645, -34.636, 159.567]

**Tulos**

74.106

**Esimerkki 0.3807**

[238.315, 168.986, -67.694]

**Tulos**

113.202

**Esimerkki 0.3808**

[-42.615, 146.387, 78.253, 133.597]

**Tulos**

78.905

**Esimerkki 0.3809**

[-75.98, 50.664, -40.114, 33.534, 147.549]

**Tulos**

23.131

**Esimerkki 0.3810**

[-4.625, 23.051, 55.425, -25.341, 191.337, 51.478, -96.858]

**Tulos**

27.781

**Esimerkki 0.3811**

[82.437, 181.613, 19.202, -88.485, 34.915, 156.498, 125.766, -30.586, 174.67]

**Tulos**

72.892

**Esimerkki 0.3812**

[84.38, 108.119, 207.756, -40.156, -86.21, 20.753, 30.957, 90.529, -39.151]

**Tulos**

41.886

**Esimerkki 0.3813**

[99.431, -0.986, -97.815, 83.097, 183.282, 61.416, -26.114, -8.399, -8.236, -67.816]

**Tulos**

21.786

**Esimerkki 0.3814**

[42.599, 243.483, 230.824, -47.984, -99.619, 79.861, 143.785, 144.058]

**Tulos**

92.126

**Esimerkki 0.3815**

[70.496, 183.122, 75.017, -19.287, 53.364, -12.389, 249.47, -88.484, 249.98, 35.226]

**Tulos**

79.652

**Esimerkki 0.3816**

[229.056, -39.647, 194.273, -55.955, 71.853, -87.782, 42.751, 130.696]

**Tulos**

60.656

**Esimerkki 0.3817**

[31.787, 236.049, -29.286]

**Tulos**

79.517

**Esimerkki 0.3818**

[84.541, -70.824, -9.953, 64.465, 208.875, 25.429, 81.195, 22.43, 87.39]

**Tulos**

54.839

**Esimerkki 0.3819**

[131.418, 24.344, -79.23, 219.208, 115.267, 158.913, 6.087]

**Tulos**

82.287

**Esimerkki 0.3820**

[64.067, -27.164, 40.172, -71.946, -49.466, 90.466]

**Tulos**

7.688

**Esimerkki 0,3821**

[239.95, 218.144, 144.395, 209.674, 171.51, 99.035, 225.941, 32.722, -21.807]

**Tulos**

146.618

**Esimerkki 0.3822**

[-2.024, -54.741, 192.956, 137.669]

**Tulos**

68.465

**Esimerkki 0.3823**

[-37.099, -89.464, -34.023, 210.086, -41.029, 189.978, 194.055]

**Tulos**

56.072

**Esimerkki 0.3824**

[243.624, 129.219, -7.592]

**Tulos**

121.75

**Esimerkki 0,3825**

[149.321, 237.643, 131.636, 64.171, 167.953, 142.336, 151.652, 94.189, 34.424]

**Tulos**

130.369

**Esimerkki 0,3826**

[83.226, 180.415, 90.764, 188.245, 45.542, -53.748, 154.893, 222.861]

**Tulos**

114.025

**Esimerkki 0.3827**

[43.623, 57.155]

**Tulos**

50.389

**Esimerkki 0.3828**

[-32.499, 21.999, 235.435, 58.638, -57.806, 224.947, 74.782]

**Tulos**

75.071

**Esimerkki 0.3829**

[198.239, 45.107, 121.978, 18.939, 26.34, 44.343, -90.294, 104.135, -25.865]

**Tulos**

49.214

**Esimerkki 0,3830**

[-9.715, -24.028, 111.091, -23.445, -20.084, 210.407, 36.112, 59.561]

**Tulos**

42.487

**Esimerkki 0,3831**

[85.254, 229.054, 5.28]

**Tulos**

106.529

**Esimerkki 0.3832**

[108.691, 208.128, 191.567, 98.62, -87.103]

**Tulos**

103.981

**Esimerkki 0,3833**

[-34.026, 86.773, 149.194, 228.14]

**Tulos**

107.52

**Esimerkki 0,3834**

[130.735, 189.442, -57.849, 209.395, 113.568, 151.598, -54.033, -25.037]

**Tulos**

82.227

**Esimerkki 0,3835**

[-27.766, 75.259, 84.057, 203.297, 187.359, 115.348, 30.845, 102.126, -33.413]

**Tulos**

81.901

**Esimerkki 0.3836**

[-10.058, 179.269, 209.598, 189.824, 72.745, -32.925]

**Tulos**

101.409

**Esimerkki 0.3837**

[207.704, 128.408, 59.125]

**Tulos**

131.746

**Esimerkki 0,3838**

[197.144, 131.832, -28.69, -53.931, 144.685]

**Tulos**

78.208

**Esimerkki 0.3839**

[171.363, 171.587]

**Tulos**

171.475

**Esimerkki 0.3840**

[104.298, 81.934, 32.322]

**Tulos**

72.851

**Esimerkki 0,3841**

[-66.784, 220.149, -95.922, 246.835, 217.926, -13.146, 106.214, 91.375, 168.497, 173.521]

**Tulos**

104.866

**Esimerkki 0.3842**

[14.155, 124.512, 14.467, -94.133, -3.907, 48.416]

**Tulos**

17.252

**Esimerkki 0.3843**

[3.654, -23.636, 142.103, 198.956, 153.939, 127.679, 4.916, 105.643, 94.915, 56.81]

**Tulos**

86.498

**Esimerkki 0.3844**

[120.461, 212.59, 146.876, 43.064, 9.191]

**Tulos**

106.436

**Esimerkki 0,3845**

[132.779, 126.164, 97.743, -59.174, -55.441]

**Tulos**

48.414

**Esimerkki 0.3846**

[-35.02, 83.136, 53.543, -54.049, 106.247]

**Tulos**

30.771

**Esimerkki 0.3847**

[171.244, -86.52, 39.794, 17.633, -51.177]

**Tulos**

18.195

**Esimerkki 0.3848**

[212.814, 69.199, 21.853, 75.408]

**Tulos**

94.818

**Esimerkki 0.3849**

[-53.89, 13.76, -7.71, 206.702, -60.992, 185.008, -78.074, -37.252, -42.426, 224.717]

**Tulos**

34.984

**Esimerkki 0,3850**

[85.25, -72.668, 117.901, 235.361]

**Tulos**

91.461

**Esimerkki 0.3851**

[136.903, 55.906, 61.519, 224.5, 94.211, 148.896, 90.372]

**Tulos**

116.044

**Esimerkki 0.3852**

[162.188, 184.691, -69.948, 122.5, 1.153, -21.48, -82.005, 210.977, -85.877, -62.758]

**Tulos**

35.944

**Esimerkki 0.3853**

[190.218, -29.318, 105.994, -58.479]

**Tulos**

52.104

**Esimerkki 0.3854**

[198.115, 225.802, 195.016]

**Tulos**

206.311

**Esimerkki 0,3855**

[5.983, 77.329, 93.862]

**Tulos**

59.058

**Esimerkki 0.3856**

[212.456, 6.972, -59.399, -83.342, 215.038, -97.851]

**Tulos**

32.312

**Esimerkki 0.3857**

[226.73, 241.549]

**Tulos**

234.14

**Esimerkki 0.3858**

[-17.789, 89.817, 133.498, 197.553, 151.859, -83.319]

**Tulos**

78.603

**Esimerkki 0.3859**

[-14.357, 78.851, 239.415, 209.764, -29.023, -3.986, 206.662, -69.088]

**Tulos**

77.28

**Esimerkki 0,3860**

[166.542, 216.326, 98.969, -96.779, 33.532]

**Tulos**

83.718

**Esimerkki 0.3861**

[221.532, 134.056, -51.187]

**Tulos**

101.467

**Esimerkki 0.3862**

[-47.024, 25.07, 65.069, 151.48, 205.827, 55.257, 231.689, 38.509, 142.422]

**Tulos**

96.478

**Esimerkki 0.3863**

[159.34, 137.597, -74.489, -76.973, -38.902, 185.253, 40.413, 111.227]

**Tulos**

55.433

**Esimerkki 0.3864**

[101.123, 196.452, -73.096, 45.159, 129.345, -60.469, -95.697]

**Tulos**

34.688

**Esimerkki 0,3865**

[43.591, 198.718, 11.835, 59.339, 114.192, 121.295, 129.154, 125.966, 23.06]

**Tulos**

91.906

**Esimerkki 0.3866**

[-86.423, 157.154, 69.563, -67.516, 147.66, 216.018, 213.404]

**Tulos**

92.837

**Esimerkki 0.3867**

[114.214, 180.975, 3.941, 110.699, 193.845, 19.516, -19.4]

**Tulos**

86.256

**Esimerkki 0.3868**

[158.763, 49.467, -49.715]

**Tulos**

52.838

**Esimerkki 0.3869**

[39.868, -4.73]

**Tulos**

17.569

**Esimerkki 0,3870**

[128.349, 188.471, -28.094, 47.591, -0.277, -79.911, 200.119, 211.298, -73.765]

**Tulos**

65.976

**Esimerkki 0,3871**

[181.256, -78.191, 162.427, -90.527, 123.709, 248.073]

**Tulos**

91.124

**Esimerkki 0.3872**

[-79.641, 34.518, -61.273, -33.453, -9.148, 24.155, 136.171, 13.771, -16.609, -27.983]

**Tulos**

-1.949

**Esimerkki 0.3873**

[36.674, -88.057, 237.244, -34.309, 219.785]

**Tulos**

74.267

**Esimerkki 0.3874**

[24.466, 170.742, 25.015]

**Tulos**

73.408

**Esimerkki 0,3875**

[97.81, -33.944, 115.252, 79.101, 46.286, 182.807, 193.15, -9.527]

**Tulos**

83.867

**Esimerkki 0.3876**

[-45.519, 20.517, -99.407]

**Tulos**

-41.47

**Esimerkki 0.3877**

[-31.437, 229.553, 167.968]

**Tulos**

122.028

**Esimerkki 0.3878**

[-25.509, 232.006, 173.597]

**Tulos**

126.698

**Esimerkki 0.3879**

[55.388, 89.889, 248.985, 150.632, 229.118]

**Tulos**

154.802

**Esimerkki 0.3880**

[81.958, -81.998, 40.536, 11.21, 203.431, -44.938, 26.275]

**Tulos**

33.782

**Esimerkki 0.3881**

[179.637, 23.624, 197.712]

**Tulos**

133.658

**Esimerkki 0.3882**

[243.793, 58.654, 149.721]

**Tulos**

150.723

**Esimerkki 0.3883**

[162.923, -68.086, 67.963]

**Tulos**

54.267

**Esimerkki 0.3884**

[-44.173, 132.185, 2.063, -32.448]

**Tulos**

14.407

**Esimerkki 0,3885**

[-58.206, 126.674, 71.656]

**Tulos**

46.708

**Esimerkki 0,3886**

[91.456, 16.428, 217.399, 13.594, -22.488, 4.119, 88.493]

**Tulos**

58.429

**Esimerkki 0.3887**

[117.287, -92.513, -39.762, 69.162, 223.599, 163.693, -67.949, 139.587, 106.428, 72.226]

**Tulos**

69.176

**Esimerkki 0.3888**

[140.622, 94.022, 211.516, 160.048]

**Tulos**

151.552

**Esimerkki 0.3889**

[217.865, -38.125, 82.461, -28.299, 219.556, 155.171, -16.325, 118.055, -26.605, -91.388]

**Tulos**

59.237

**Esimerkki 0,3890**

[-35.683, -36.63, 70.899, 196.175, 21.635, 218.209]

**Tulos**

72.434

**Esimerkki 0.3891**

[127.379, 157.119, 91.534, -88.747, 31.961, 131.073]

**Tulos**

75.053

**Esimerkki 0.3892**

[161.152, 158.27, 52.59, -97.356]

**Tulos**

68.664

**Esimerkki 0.3893**

[68.48, -29.873, 23.108, -73.915, -10.349]

**Tulos**

-4.51

**Esimerkki 0.3894**

[-66.669, -79.074, 31.177, 131.327, 45.026, -15.114, 146.428]

**Tulos**

27.586

**Esimerkki 0,3895**

[146.601, -18.492, 0.056, 28.156, 115.692, -54.123]

**Tulos**

36.315

**Esimerkki 0,3896**

[132.035, 139.298]

**Tulos**

135.666

**Esimerkki 0,3897**

[10.216, 113.588, 134.786, 101.737, 147.605, 234.905, -97.513, -15.72]

**Tulos**

78.7

**Esimerkki 0.3898**

[111.78, 114.476, 148.905]

**Tulos**

125.054

**Esimerkki 0.3899**

[77.848, -4.699, -16.474, -58.741, -55.387, 50.842, -98.719, 117.979, -25.477, -43.193]

**Tulos**

-5.602

**Esimerkki 0.3900**

[162.645, 32.079, 127.117, 36.041, 19.521, 221.266, -68.557, 199.936, -14.933, -72.207]

**Tulos**

64.291

**Esimerkki 0.3901**

[-90.251, 202.827, 58.923, 3.153, -59.158]

**Tulos**

23.099

**Esimerkki 0.3902**

[178.052, 84.535, 239.018, -46.646, 209.211, 111.926, 118.579]

**Tulos**

127.811

**Esimerkki 0.3903**

[96.05, -41.158, 143.014, 131.648, 173.96, -17.481, 22.924, 81.858, -2.375]

**Tulos**

65.382

**Esimerkki 0.3904**

[-28.936, -11.062, 34.163, 210.583]

**Tulos**

51.187

**Esimerkki 0.3905**

[202.511, 115.323, -27.64]

**Tulos**

96.731

**Esimerkki 0.3906**

[185.926, 100.873, 115.163, 119.216]

**Tulos**

130.294

**Esimerkki 0.3907**

[139.6, 119.652, 135.338, 171.029, 247.554, 222.19, -61.931, 120.928, 235.688]

**Tulos**

147.783

**Esimerkki 0.3908**

[-70.697, 68.691, 143.128, -76.987, 239.679, -43.992, 246.662, -65.474]

**Tulos**

55.126

**Esimerkki 0.3909**

[56.243, 63.036, 164.806, -60.897]

**Tulos**

55.797

**Esimerkki 0.3910**

[-51.804, -28.782, 31.225, 196.925, 227.008, 189.143]

**Tulos**

93.952

**Esimerkki 0.3911**

[37.626, -60.565, -32.517, -72.804, 148.789, 184.111, -77.953, 39.64, 188.519]

**Tulos**

39.427

**Esimerkki 0.3912**

[18.334, 187.117, -55.156]

**Tulos**

50.098

**Esimerkki 0.3913**

[191.966, 151.181, -27.921, -97.851]

**Tulos**

54.344

**Esimerkki 0.3914**

[186.849, 248.69, -78.191]

**Tulos**

119.116

**Esimerkki 0.3915**

[-55.127, 213.489, 163.679, -39.68, 23.105, 0.931, 135.822]

**Tulos**

63.174

**Esimerkki 0.3916**

[171.364, -2.505, -96.795, 220.557]

**Tulos**

73.155

**Esimerkki 0.3917**

[-93.279, 77.253]

**Tulos**

-8.013

**Esimerkki 0.3918**

[201.315, 234.255, 119.535]

**Tulos**

185.035

**Esimerkki 0.3919**

[-45.826, -27.376, 126.782, -28.164, 213.819, 186.676]

**Tulos**

70.985

**Esimerkki 0.3920**

[48.171, 203.398, 189.183, 187.558, -29.593, 147.921, 174.871, 115.694, -15.988, 70.925]

**Tulos**

109.214

**Esimerkki 0,3921**

[-56.201, -77.67, -75.53, -51.92, 146.416, 141.525]

**Tulos**

4.437

**Esimerkki 0.3922**

[87.258, 29.558, -48.199, -28.615, 46.642]

**Tulos**

17.329

**Esimerkki 0.3923**

[-84.323, 103.98, 130.165, 248.69, 201.98, 160.383, 196.963, 176.567, 216.351, 18.029]

**Tulos**

136.879

**Esimerkki 0.3924**

[-1.794, 20.868, -98.98, 76.164, 5.808, -59.338, -76.515, -90.202, -77.626, 150.554]

**Tulos**

-15.106

**Esimerkki 0,3925**

[8.159, 147.056, -47.644, -39.261, -63.989, 200.737, -77.58]

**Tulos**

18.211

**Esimerkki 0,3926**

[110.444, 23.089, -6.235, 112.579, 31.292, 190.857, 58.854, 148.587, 163.706, -5.219]

**Tulos**

82.795

**Esimerkki 0.3927**

[-82.011, 94.037, 140.084]

**Tulos**

50.703

**Esimerkki 0.3928**

[232.281, 42.702, 174.269, 57.0, 104.365, 136.219, 155.583, 10.413]

**Tulos**

114.104

**Esimerkki 0.3929**

[33.387, -28.533, 50.331]

**Tulos**

18.395

**Esimerkki 0.3930**

[178.096, 125.072, -59.462, 70.309]

**Tulos**

78.504

**Esimerkki 0.3931**

[-33.269, 67.423, 66.702, 77.302, -35.234, 92.894, 123.068, -78.573, 123.346, 122.928]

**Tulos**

52.659

**Esimerkki 0.3932**

[152.207, 89.365, 236.077, 197.191, 191.616]

**Tulos**

173.291

**Esimerkki 0,3933**

[-4.527, 190.006, 207.554, 178.685, -20.05, 13.024, 190.617, 37.539]

**Tulos**

99.106

**Esimerkki 0.3934**

[-7.709, -56.36, -63.432, 53.588, 123.113, -61.531, 58.449, 36.598]

**Tulos**

10.339

**Esimerkki 0,3935**

[25.149, 223.851, 78.925, 169.842, -19.365, 40.834, 194.112, -8.807, 26.118, 232.943]

**Tulos**

96.36

**Esimerkki 0,3936**

[6.003, 120.721, 160.62]

**Tulos**

95.781

**Esimerkki 0.3937**

[4.867, 209.602, 216.783, -72.909, 115.806]

**Tulos**

94.83

**Esimerkki 0.3938**

[50.45, 54.627, 114.736, -12.781, 143.789, 18.589, -67.676, -30.697, 25.542]

**Tulos**

32.953

**Esimerkki 0.3939**

[244.419, 64.966, -38.225, 28.882, 49.623, 90.963, 49.927]

**Tulos**

70.079

**Esimerkki 0.3940**

[90.801, -47.91, 138.42]

**Tulos**

60.437

**Esimerkki 0.3941**

[1.826, -13.578, 29.756, 119.525, -85.049, 91.151, 154.453, 62.028, 167.714, -30.166]

**Tulos**

49.766

**Esimerkki 0.3942**

[80.806, 35.876, 158.546, 92.022, 94.527, 35.887, 208.459]

**Tulos**

100.875

**Esimerkki 0.3943**

[-84.618, -21.618]

**Tulos**

-53.118

**Esimerkki 0.3944**

[89.754, -12.667, 32.486, 212.806, 38.691, 125.914, 218.354, 129.832, 73.432, 5.113]

**Tulos**

91.372

**Esimerkki 0,3945**

[-58.667, 91.919, 197.571, 171.254, -20.474, 23.239, 29.004]

**Tulos**

61.978

**Esimerkki 0.3946**

[33.175, 147.715, 149.754]

**Tulos**

110.215

**Esimerkki 0.3947**

[-6.485, 220.59, 172.044, -34.995, 247.407, 116.292, -39.344]

**Tulos**

96.501

**Esimerkki 0.3948**

[-36.179, 1.648, 20.739, 75.963, -55.584, 182.422]

**Tulos**

31.501

**Esimerkki 0.3949**

[182.805, 115.12, 112.276, -93.335, 191.826, 41.542, 11.564, 125.204, 70.811, 143.61]

**Tulos**

90.142

**Esimerkki 0,3950**

[-25.972, -50.621, -29.364, 33.0, 174.639, 55.518, 2.267, 157.02, 178.689]

**Tulos**

55.02

**Esimerkki 0.3951**

[52.095, 42.225, 104.656, 225.405, -48.308, 23.468]

**Tulos**

66.59

**Esimerkki 0.3952**

[140.05, 228.943, 147.451, 10.853, -28.81]

**Tulos**

99.697

**Esimerkki 0.3953**

[39.224, 123.622, 144.476, -19.599]

**Tulos**

71.931

**Esimerkki 0.3954**

[174.309, -18.898, 212.555, 54.589, -70.15, 240.867, 61.917, -57.06]

**Tulos**

74.766

**Esimerkki 0.3955**

[50.09, 67.904, 74.533, 182.222]

**Tulos**

93.687

**Esimerkki 0.3956**

[-37.027, -31.987, 45.761, -22.372, -67.476, -51.455, -43.713, 15.122, 229.536]

**Tulos**

4.043

**Esimerkki 0.3957**

[18.673, 149.893, -56.034, 91.075]

**Tulos**

50.902

**Esimerkki 0.3958**

[-34.628, -93.572]

**Tulos**

-64.1

**Esimerkki 0.3959**

[101.045, 87.664, 7.351, -47.12]

**Tulos**

37.235

**Esimerkki 0,3960**

[111.617, 39.886]

**Tulos**

75.752

**Esimerkki 0.3961**

[188.727, 75.518, 33.819, -59.29, 245.889, -87.245, 67.812, 178.693, -46.386, -98.263]

**Tulos**

49.927

**Esimerkki 0.3962**

[175.557, -24.87, -1.936, 77.531, 97.551]

**Tulos**

64.767

**Esimerkki 0.3963**

[161.151, 80.621]

**Tulos**

120.886

**Esimerkki 0.3964**

[242.781, 62.735, -25.932, -67.596, -72.019, 30.542, 16.951]

**Tulos**

26.78

**Esimerkki 0,3965**

[162.348, -13.274, 229.093, 137.644]

**Tulos**

128.953

**Esimerkki 0.3966**

[195.441, -73.026, -80.726, 91.359, 38.888, -71.239, -10.157, 25.075, 88.499, 0.619]

**Tulos**

20.473

**Esimerkki 0.3967**

[173.696, 61.348, 1.068, 139.875, -11.885, 214.671, 180.011, 82.018, 111.482]

**Tulos**

105.809

**Esimerkki 0.3968**

[85.886, -99.995, 91.906, -98.811, 165.516, 84.794]

**Tulos**

38.216

**Esimerkki 0.3969**

[115.778, 82.548, -1.736, 187.137, -21.418, -15.35]

**Tulos**

57.826

**Esimerkki 0.3970**

[35.457, 222.093, 213.643, 88.716, -11.415, 190.333, 38.58, 56.243, 80.049]

**Tulos**

101.522

**Esimerkki 0.3971**

[112.391, 88.953, 98.97, 169.876, 129.441, 17.813, 119.358, 81.437, -25.988, 144.415]

**Tulos**

93.667

**Esimerkki 0.3972**

[-46.998, -31.307, 129.178, 96.471]

**Tulos**

36.836

**Esimerkki 0.3973**

[40.478, 159.839, 91.88, 118.268, 58.019, 118.942, -73.552]

**Tulos**

73.411

**Esimerkki 0.3974**

[-63.614, 113.639, 243.844, 172.506]

**Tulos**

116.594

**Esimerkki 0,3975**

[86.206, 195.457, 240.739, 94.806, -13.486, 78.413, -10.174]

**Tulos**

95.994

**Esimerkki 0.3976**

[75.879, 43.123]

**Tulos**

59.501

**Esimerkki 0.3977**

[30.232, 149.907, 184.339, 56.011, 193.276, 16.681, 193.97, 88.932, 111.693, 99.229]

**Tulos**

112.427

**Esimerkki 0.3978**

[-11.171, 147.679, 21.621]

**Tulos**

52.71

**Esimerkki 0.3979**

[127.43, 26.368, -3.244, -44.32, -16.2, -89.489, 136.82]

**Tulos**

19.624

**Esimerkki 0.3980**

[117.349, 97.708]

**Tulos**

107.529

**Esimerkki 0.3981**

[74.601, 131.018, -45.91]

**Tulos**

53.236

**Esimerkki 0.3982**

[201.917, 240.159, 36.615]

**Tulos**

159.564

**Esimerkki 0.3983**

[-15.064, 239.128, 247.615]

**Tulos**

157.226

**Esimerkki 0.3984**

[27.432, 87.145, 27.101, -69.854]

**Tulos**

17.956

**Esimerkki 0,3985**

[-71.745, -18.239, 214.837, -22.915, 180.841, -4.641]

**Tulos**

46.356

**Esimerkki 0.3986**

[-96.833, -66.591, 16.497, 117.61, 155.714, -18.361, 51.448, -26.681, 145.481, -10.042]

**Tulos**

26.824

**Esimerkki 0.3987**

[68.917, 75.926, 15.829, -18.994, -55.213]

**Tulos**

17.293

**Esimerkki 0.3988**

[-76.341, -32.542, 58.871, 221.215, -3.84, -15.797, 117.105, 211.194]

**Tulos**

59.983

**Esimerkki 0.3989**

[162.305, 54.797, 192.129, 162.74, 141.9, 206.545, 33.004, 82.771]

**Tulos**

129.524

**Esimerkki 0.3990**

[122.019, 183.668, 235.06, 131.735]

**Tulos**

168.121

**Esimerkki 0.3991**

[74.43, 138.738, 114.237, 138.845, 188.957, 103.103, -43.988, -68.085, 157.274]

**Tulos**

89.279

**Esimerkki 0.3992**

[62.624, 94.787]

**Tulos**

78.706

**Esimerkki 0.3993**

[6.838, 74.884, -25.225, 46.999, 132.123, 88.956, -62.009, 23.885]

**Tulos**

35.806

**Esimerkki 0.3994**

[42.384, 147.392, 5.188, 209.73, -69.962, 230.239, 240.38, 25.261, 62.139]

**Tulos**

99.195

**Esimerkki 0,3995**

[110.28, -22.15, 63.708, -3.321, 46.432]

**Tulos**

38.99

**Esimerkki 0,3996**

[24.936, 118.724, 203.784, 6.739, 156.178, 111.211, -27.508, -81.763, 206.653, -14.826]

**Tulos**

70.413

**Esimerkki 0.3997**

[32.574, 12.777, 30.795, -48.041, -0.292, -73.887]

**Tulos**

-7.679

**Esimerkki 0.3998**

[72.562, 168.233, 57.896, -15.978, 205.269, 113.703, -35.753, 170.648, 128.816, 128.697]

**Tulos**

99.409

**Esimerkki 0,3999**

[14.59, 18.35]

**Tulos**

16.47

**Esimerkki 0.4000**

[213.2, 159.287, 214.859, 189.464, 185.706, -85.847, 215.647, 8.545]

**Tulos**

137.608

**Esimerkki 0.4001**

[-76.343, 242.615, -57.476, 162.015, -72.399]

**Tulos**

39.682

**Esimerkki 0.4002**

[210.982, -37.264, 192.327, -54.075, -77.356, 193.668, 37.14, 56.456, 243.352]

**Tulos**

85.026

**Esimerkki 0.4003**

[193.704, 112.596, -35.882, 133.038, -31.95, 188.938, -23.184, -87.383]

**Tulos**

56.235

**Esimerkki 0.4004**

[234.404, 162.933, 178.375, 10.683, 181.727, -50.587, 169.507, -72.896, 168.06, 238.363]

**Tulos**

122.057

**Esimerkki 0.4005**

[-29.83, 167.891, -93.135, 188.217, 52.599, -80.965, -9.025]

**Tulos**

27.965

**Esimerkki 0.4006**

[14.818, 98.871, -79.033]

**Tulos**

11.552

**Esimerkki 0.4007**

[115.158, 2.296, 122.393, -22.615, 56.661, 70.718, -79.846, 95.847]

**Tulos**

45.076

**Esimerkki 0.4008**

[34.559, 72.082, -80.302, -54.509, 136.096]

**Tulos**

21.585

**Esimerkki 0.4009**

[61.57, 87.563, 30.863, 34.388, 19.529, 187.264]

**Tulos**

70.196

**Esimerkki 0.4010**

[63.79, 201.051]

**Tulos**

132.42

**Esimerkki 0.4011**

[-89.872, 123.594, 81.341, -47.871, -38.683]

**Tulos**

5.702

**Esimerkki 0.4012**

[129.847, 1.147, 221.868, 34.963, 23.464, 47.57, 213.896]

**Tulos**

96.108

**Esimerkki 0.4013**

[-84.316, 211.229, 6.601, 237.546, 125.837, 94.941, 37.632, 236.012, 198.728]

**Tulos**

118.246

**Esimerkki 0.4014**

[210.352, -33.371, 96.94, 149.299, 128.468, 73.334, 221.988, 247.44, 130.441, 114.575]

**Tulos**

133.947

**Esimerkki 0,4015**

[176.448, 36.719, 196.363, -26.5, -57.937, 144.564, -41.88, 7.251, -72.878, 11.25]

**Tulos**

37.34

**Esimerkki 0.4016**

[-49.954, 52.024, 191.779, 47.064]

**Tulos**

60.228

**Esimerkki 0.4017**

[42.693, -17.294, 222.751, 14.94, 30.978, 26.505, 54.382, 143.499, -58.178, -68.823]

**Tulos**

39.145

**Esimerkki 0.4018**

[-5.214, 241.638, 175.631, 201.443, 244.619]

**Tulos**

171.623

**Esimerkki 0.4019**

[60.245, 177.311, 243.865]

**Tulos**

160.474

**Esimerkki 0.4020**

[154.873, 44.322, 204.427, 29.301, 18.928, -78.456, -84.482]

**Tulos**

41.273

**Esimerkki 0.4021**

[45.549, 93.19, 223.167, 128.466, 154.995, 45.222, 197.511, -54.732, 130.321]

**Tulos**

107.077

**Esimerkki 0.4022**

[-29.591, -52.953, 195.243, 169.508, 148.561, 19.296]

**Tulos**

75.011

**Esimerkki 0.4023**

[-75.549, 42.77, 143.141, 6.497]

**Tulos**

29.215

**Esimerkki 0.4024**

[152.75, 57.674]

**Tulos**

105.212

**Esimerkki 0,4025**

[151.271, -42.466, 75.918, -71.371, 206.428, 33.811, -80.568, -33.431]

**Tulos**

29.949

**Esimerkki 0.4026**

[98.666, -84.275, 14.739]

**Tulos**

9.71

**Esimerkki 0.4027**

[1.435, 246.462, 5.433, -3.093, 31.948, 113.344, 41.816, 43.437, -93.129, 116.292]

**Tulos**

50.395

**Esimerkki 0.4028**

[78.182, 42.666, -76.123, -79.665, -76.476, 201.452, 76.318, 226.382, 49.449]

**Tulos**

49.132

**Esimerkki 0.4029**

[-98.53, 120.603, 65.556, 145.984, -5.08, 16.496, 89.726]

**Tulos**

47.822

**Esimerkki 0.4030**

[-50.998, 36.14, 100.028, -48.363, 234.622]

**Tulos**

54.286

**Esimerkki 0,4031**

[95.642, -43.63, 102.013]

**Tulos**

51.342

**Esimerkki 0.4032**

[196.174, -20.323, 230.679, 179.193]

**Tulos**

146.431

**Esimerkki 0,4033**

[-55.82, -68.866, 159.882, 227.351, 224.405, 170.123, -26.867]

**Tulos**

90.03

**Esimerkki 0,4034**

[35.852, 19.221, -0.701, 40.098, 218.102, -56.196, 113.633]

**Tulos**

52.858

**Esimerkki 0,4035**

[-63.697, 61.614, -59.842, -45.363]

**Tulos**

-26.822

**Esimerkki 0.4036**

[92.978, 156.47]

**Tulos**

124.724

**Esimerkki 0.4037**

[58.978, 130.099, 69.294, 221.896, 145.41, 24.831, 59.427, 198.174, 146.553]

**Tulos**

117.185

**Esimerkki 0.4038**

[169.737, 56.872, 102.557, -9.77]

**Tulos**

79.849

**Esimerkki 0.4039**

[195.228, 76.333, -60.749, 145.464, 136.737]

**Tulos**

98.603

**Esimerkki 0.4040**

[106.518, 120.729, 162.408, -34.092, 132.2, 103.805, -60.777, 119.713, -23.522]

**Tulos**

69.665

**Esimerkki 0.4041**

[-6.305, 138.079, 112.522, 52.257, -2.129]

**Tulos**

58.885

**Esimerkki 0.4042**

[-65.066, -45.439, 30.554, 231.578]

**Tulos**

37.907

**Esimerkki 0.4043**

[136.136, 72.696, 63.517, 108.592, 188.638, 37.871, -64.559, 85.379, -13.679, -17.628]

**Tulos**

59.696

**Esimerkki 0.4044**

[-38.063, -41.033, 67.932, 201.401, 159.948, 119.631, 73.635, -96.282, 85.486]

**Tulos**

59.184

**Esimerkki 0.4045**

[-51.182, 20.064, 37.668, -25.164, 179.779, 26.517, 213.109, 50.245]

**Tulos**

56.379

**Esimerkki 0.4046**

[84.997, 58.227, -28.657]

**Tulos**

38.189

**Esimerkki 0.4047**

[-38.149, 240.454, 149.401, -58.047, 7.724, 218.695, 88.349, 174.634]

**Tulos**

97.883

**Esimerkki 0.4048**

[-95.472, -47.841]

**Tulos**

-71.656

**Esimerkki 0.4049**

[218.807, 72.849, 7.838, 124.81, 45.929, 239.888]

**Tulos**

118.354

**Esimerkki 0,4050**

[-24.857, -28.799, 240.99]

**Tulos**

62.445

**Esimerkki 0.4051**

[245.96, -87.3, 123.817, 198.057, 54.044, -11.596, 144.35, -66.959, 122.372, -97.253]

**Tulos**

62.549

**Esimerkki 0.4052**

[-89.223, 104.616]

**Tulos**

7.696

**Esimerkki 0.4053**

[-16.898, 37.874, -62.807, 233.541, 121.576, 65.272, -47.774, -69.595]

**Tulos**

32.649

**Esimerkki 0.4054**

[41.234, 30.869]

**Tulos**

36.052

**Esimerkki 0.4055**

[-49.922, 96.2, -24.223, 126.909, 168.393, -55.73, -51.195, 92.652]

**Tulos**

37.886

**Esimerkki 0.4056**

[76.419, 120.619]

**Tulos**

98.519

**Esimerkki 0.4057**

[153.936, 68.919, -78.569, 71.736, -4.739, 35.463, 175.293, -1.864, 128.619, 151.806]

**Tulos**

70.06

**Esimerkki 0.4058**

[153.539, -51.583, 173.264, 213.663, 211.19, 216.358, 237.361, -57.464]

**Tulos**

137.041

**Esimerkki 0.4059**

[61.147, 142.059, 72.591, 148.969, -39.06, 47.712, 74.829, 248.096, 100.913]

**Tulos**

95.251

**Esimerkki 0.4060**

[107.17, -73.13, -63.072, -44.994, -99.673, -58.318, 143.699, -65.772]

**Tulos**

-19.261

**Esimerkki 0,4061**

[161.659, 2.073, 59.036, 22.298, 154.516, 68.136, 173.758, 153.41, 143.713, 176.345]

**Tulos**

111.494

**Esimerkki 0.4062**

[25.087, 132.133, 94.502, 19.928, 185.568, 214.751]

**Tulos**

111.995

**Esimerkki 0,4063**

[-34.12, 34.539, -45.165, -18.658, -44.764, 198.851, 191.811]

**Tulos**

40.356

**Esimerkki 0.4064**

[56.983, 243.287, -89.286, 218.223]

**Tulos**

107.302

**Esimerkki 0,4065**

[-0.397, 34.399, -13.497, -14.222, -35.751, -17.127, 125.508]

**Tulos**

11.273

**Esimerkki 0.4066**

[24.106, 35.813, 171.297, 240.108]

**Tulos**

117.831

**Esimerkki 0,4067**

[66.767, -68.103, 119.583, 223.622]

**Tulos**

85.467

**Esimerkki 0.4068**

[-9.76, 15.211, 221.876, 199.639, -25.325, 213.489, -14.541, 87.066]

**Tulos**

85.957

**Esimerkki 0.4069**

[118.367, 16.948, 51.017, 145.402, 195.233, 217.214, -61.421]

**Tulos**

97.537

**Esimerkki 0.4070**

[222.198, -91.259, -78.475, 220.593, -58.21, -63.051, 77.786, 168.183]

**Tulos**

49.721

**Esimerkki 0.4071**

[-53.962, 160.406, 187.622, 70.818, -27.967, -67.85, 11.942, -57.093]

**Tulos**

27.99

**Esimerkki 0.4072**

[22.104, 133.459, 92.99, -28.152, 199.669, 81.646]

**Tulos**

83.619

**Esimerkki 0.4073**

[42.1, 149.408, 243.743, -11.86, -53.014, 73.183, 123.704, 208.789]

**Tulos**

97.007

**Esimerkki 0.4074**

[226.383, 37.978, 174.444, 117.212]

**Tulos**

139.004

**Esimerkki 0,4075**

[-71.418, 201.611, 148.882, -37.356]

**Tulos**

60.43

**Esimerkki 0.4076**

[-82.27, 46.742, -60.547, 97.652, 121.66, 104.393, -43.603, 125.281, 42.318, 200.514]

**Tulos**

55.214

**Esimerkki 0.4077**

[203.976, 106.117, 62.128, -89.428, 180.453, 155.566, 213.868]

**Tulos**

118.954

**Esimerkki 0.4078**

[-54.255, -20.658, 4.8, 194.242, -41.251]

**Tulos**

16.576

**Esimerkki 0.4079**

[166.467, 133.884, 188.261, 235.204, -77.596, -56.129]

**Tulos**

98.348

**Esimerkki 0.4080**

[200.382, 45.685]

**Tulos**

123.034

**Esimerkki 0.4081**

[-52.79, -98.806, 233.869, 211.453]

**Tulos**

73.432

**Esimerkki 0.4082**

[168.656, 64.627, 25.645]

**Tulos**

86.309

**Esimerkki 0.4083**

[83.926, 146.107]

**Tulos**

115.017

**Esimerkki 0.4084**

[91.783, 3.103, 38.462, 30.526]

**Tulos**

40.969

**Esimerkki 0,4085**

[-51.603, 117.351, -67.451, 218.664, 68.981, 167.005, -53.851, 104.996]

**Tulos**

63.012

**Esimerkki 0.4086**

[2.907, 237.739, 37.725, 104.981, -41.367, 54.094, 5.597, 213.723]

**Tulos**

76.925

**Esimerkki 0,4087**

[156.604, 235.556, 15.475, 164.817, -14.254, 216.116]

**Tulos**

129.052

**Esimerkki 0.4088**

[61.413, 78.605, 80.788, 185.916, -74.896, 220.309]

**Tulos**

92.022

**Esimerkki 0.4089**

[218.567, 216.211, 93.953]

**Tulos**

176.244

**Esimerkki 0.4090**

[-62.582, -83.49]

**Tulos**

-73.036

**Esimerkki 0,4091**

[-24.449, 190.879, 15.497, -18.605, -87.934, 42.644, 145.409]

**Tulos**

37.634

**Esimerkki 0.4092**

[53.271, 224.646, -66.568, -23.058, -60.09, 178.437, -70.082, 131.116]

**Tulos**

45.959

**Esimerkki 0.4093**

[58.158, 80.899, 176.016, 231.597, -38.907, -25.986, 183.774, 43.886]

**Tulos**

88.68

**Esimerkki 0.4094**

[-11.208, 57.135, -56.473, 36.973, -10.288, -18.376, -67.063, 166.957, 8.378, 191.148]

**Tulos**

29.718

**Esimerkki 0,4095**

[41.877, -55.049, 146.127]

**Tulos**

44.318

**Esimerkki 0.4096**

[129.86, -74.992, 143.161]

**Tulos**

66.01

**Esimerkki 0.4097**

[128.991, -12.032, 231.969, 181.638, 1.915, -35.762, 45.889]

**Tulos**

77.515

**Esimerkki 0.4098**

[234.843, 52.306, 40.85, 227.132, 192.94, 68.671, -99.124, 169.261, -89.051, -10.679]

**Tulos**

78.715

**Esimerkki 0.4099**

[118.708, 93.351, 98.357, 89.619, 94.808, 26.052, 217.183, 50.426]

**Tulos**

98.563

**Esimerkki 0.4100**

[156.072, -97.615, 183.405, 166.972, 2.398, -19.946, 162.579, 170.298, 47.56, 31.761]

**Tulos**

80.348

**Esimerkki 0.4101**

[181.727, -84.77, 104.286, 137.156, 108.769, 42.211, -49.786, -57.224]

**Tulos**

47.796

**Esimerkki 0.4102**

[69.496, -74.903]

**Tulos**

-2.704

**Esimerkki 0.4103**

[15.381, -32.835, 231.553, 185.532, 69.076, 159.671, 209.149, 51.605]

**Tulos**

111.142

**Esimerkki 0.4104**

[14.088, -84.121]

**Tulos**

-35.016

**Esimerkki 0.4105**

[-70.638, 91.535, 238.435, 3.142, 229.662, 154.363, -34.792, -14.688, -18.959, 0.645]

**Tulos**

57.871

**Esimerkki 0.4106**

[68.266, 67.672, 182.155, -73.28, -16.549, 25.442]

**Tulos**

42.284

**Esimerkki 0.4107**

[116.921, 17.443, 171.06, 238.514, 55.396]

**Tulos**

119.867

**Esimerkki 0.4108**

[75.287, 170.443, 203.643]

**Tulos**

149.791

**Esimerkki 0.4109**

[-99.195, 170.817, 189.924, 119.213]

**Tulos**

95.19

**Esimerkki 0.4110**

[116.81, 174.26, 214.05]

**Tulos**

168.373

**Esimerkki 0.4111**

[-32.295, -15.78, 109.357, -15.374, -39.398, 237.91, 177.01, 97.164, 118.13]

**Tulos**

70.747

**Esimerkki 0.4112**

[201.174, -31.52, -51.29, -91.504, 138.391]

**Tulos**

33.05

**Esimerkki 0.4113**

[225.022, 61.063, 163.442]

**Tulos**

149.842

**Esimerkki 0.4114**

[130.036, -41.961]

**Tulos**

44.038

**Esimerkki 0.4115**

[73.258, 119.058]

**Tulos**

96.158

**Esimerkki 0.4116**

[49.63, 98.08, 113.297, 45.697]

**Tulos**

76.676

**Esimerkki 0.4117**

[195.56, 198.265, -13.16, -96.96]

**Tulos**

70.926

**Esimerkki 0.4118**

[138.493, 120.089, -77.302, -6.35, 147.393, 174.535, 54.408, -43.141]

**Tulos**

63.516

**Esimerkki 0.4119**

[-26.582, 128.309, 109.952, 136.584, 188.957, 52.098, 36.082, 134.269]

**Tulos**

94.959

**Esimerkki 0,4120**

[216.346, 207.165, 103.863, 16.849, 15.394, 63.56, 180.738]

**Tulos**

114.845

**Esimerkki 0.4121**

[102.962, -12.02, 181.008, -23.382, 39.984, -58.016, 132.51, 21.728, 160.143]

**Tulos**

60.546

**Esimerkki 0.4122**

[98.886, 63.645, -14.731, 210.942, 79.254, 127.742, 246.042]

**Tulos**

115.969

**Esimerkki 0.4123**

[159.301, 197.915, 139.146, 227.732, 123.147, 115.352, 213.182, -23.946, 111.067, 86.199]

**Tulos**

134.91

**Esimerkki 0.4124**

[41.308, 149.33, -33.086, -10.268, 209.148, -69.203, -68.646, -82.073, 83.754]

**Tulos**

24.474

**Esimerkki 0,4125**

[6.755, 141.966, -60.579, 26.184, 172.267, -75.058, 85.479]

**Tulos**

42.431

**Esimerkki 0,4126**

[-14.77, 239.836, 176.436, -95.457, -85.007, 150.576, 110.105]

**Tulos**

68.817

**Esimerkki 0.4127**

[132.489, -32.682, 79.578, 107.961, 24.072, 23.275, -71.129, -61.546]

**Tulos**

25.252

**Esimerkki 0.4128**

[39.68, -26.777]

**Tulos**

6.451

**Esimerkki 0.4129**

[146.976, -87.595, 35.33, 242.36, 18.668, 237.929, -84.004]

**Tulos**

72.809

**Esimerkki 0,4130**

[222.437, 198.009, 41.408, 47.695, 228.724, -22.472, 159.11, 39.423]

**Tulos**

114.292

**Esimerkki 0.4131**

[200.155, 27.505, 76.27, -69.95]

**Tulos**

58.495

**Esimerkki 0,4132**

[178.719, 196.289, 125.624, 161.807, -1.578, -42.576, 211.912, 105.41]

**Tulos**

116.951

**Esimerkki 0,4133**

[-69.61, -23.279, 14.468, -43.987, 221.082, 17.57]

**Tulos**

19.374

**Esimerkki 0,4134**

[-6.099, 142.31]

**Tulos**

68.106

**Esimerkki 0,4135**

[30.836, -5.848, 31.936]

**Tulos**

18.975

**Esimerkki 0,4136**

[-5.791, 37.676, 30.931, -19.175]

**Tulos**

10.91

**Esimerkki 0,4137**

[102.137, 68.215, 58.59, 33.217, 66.776, 139.924, 54.927, -5.843, 207.756, 233.008]

**Tulos**

95.871

**Esimerkki 0.4138**

[99.278, 72.353, -21.292]

**Tulos**

50.113

**Esimerkki 0.4139**

[215.561, -18.128]

**Tulos**

98.716

**Esimerkki 0,4140**

[-79.037, -76.421, 49.322, -41.773, 140.857, 150.669, 240.753, 8.294, -92.965]

**Tulos**

33.3

**Esimerkki 0.4141**

[219.274, 25.788, 197.697, 8.13, -95.201]

**Tulos**

71.138

**Esimerkki 0.4142**

[188.62, -50.388, 147.187, 249.488]

**Tulos**

133.727

**Esimerkki 0.4143**

[37.282, -97.352, -18.909]

**Tulos**

-26.326

**Esimerkki 0.4144**

[158.533, -82.667, 23.144, 225.234, 223.218, 36.676, -75.088, 211.084]

**Tulos**

90.017

**Esimerkki 0.4145**

[41.573, 107.077, 26.564, -66.491, -90.163, 199.995, -28.782]

**Tulos**

27.11

**Esimerkki 0.4146**

[204.247, 14.861, 25.294, -7.48, -34.313, -43.283, 138.433, 9.437, 123.092, -55.422]

**Tulos**

37.487

**Esimerkki 0.4147**

[-48.104, 166.275, 212.102]

**Tulos**

110.091

**Esimerkki 0.4148**

[74.782, 172.791, -54.697, 117.477, -12.676, -16.392, 134.356, 101.245, -84.741]

**Tulos**

48.016

**Esimerkki 0.4149**

[30.994, -16.099, 35.689, 79.202, 120.435]

**Tulos**

50.044

**Esimerkki 0,4150**

[141.554, 211.997, 146.939, 123.283, -58.205]

**Tulos**

113.114

**Esimerkki 0.4151**

[-27.223, -59.709, 186.655, -63.274]

**Tulos**

9.112

**Esimerkki 0.4152**

[216.842, -29.958, 217.533, -22.207, 51.321, 167.892, 94.714, -94.535]

**Tulos**

75.2

**Esimerkki 0.4153**

[-62.433, -43.441, -21.481, 66.703, 194.636, -0.827, 102.425, 148.207]

**Tulos**

47.974

**Esimerkki 0.4154**

[153.347, -76.613, 223.775, -98.163, -5.921, 178.413, 37.438, 23.298, 63.622, 164.246]

**Tulos**

66.344

**Esimerkki 0,4155**

[67.194, 99.59, -3.321, 229.462, 150.176, -88.03]

**Tulos**

75.845

**Esimerkki 0.4156**

[239.96, 143.808, 223.874, 249.699, 207.385, 225.049, 179.984, 110.664, 170.793]

**Tulos**

194.58

**Esimerkki 0.4157**

[12.003, 60.761]

**Tulos**

36.382

**Esimerkki 0.4158**

[57.829, 139.23, -90.78, 200.837, 48.206]

**Tulos**

71.064

**Esimerkki 0.4159**

[142.811, -25.319, 108.775, 219.338]

**Tulos**

111.401

**Esimerkki 0,4160**

[-12.821, 212.32, 117.75, -73.693, 1.379, 45.566, 132.444, 234.121, 157.978, 150.538]

**Tulos**

96.558

**Esimerkki 0,4161**

[4.102, -87.542, -86.997, -15.641, 41.532, 101.529, 220.459]

**Tulos**

25.349

**Esimerkki 0.4162**

[38.095, -6.436, 75.327, 56.612, 156.816]

**Tulos**

64.083

**Esimerkki 0,4163**

[149.592, -78.777, 213.452, 50.921, 231.552]

**Tulos**

113.348

**Esimerkki 0,4164**

[129.9, 162.574, 12.78, 74.385, -93.612, 80.394]

**Tulos**

61.07

**Esimerkki 0,4165**

[10.052, -64.278]

**Tulos**

-27.113

**Esimerkki 0,4166**

[180.783, -27.29]

**Tulos**

76.746

**Esimerkki 0.4167**

[30.823, -4.312, 126.79, 131.3, 195.176, 52.635, -71.028, 244.36, 33.597, 202.087]

**Tulos**

94.143

**Esimerkki 0.4168**

[-17.141, 203.132, -6.872, 155.222, -99.642]

**Tulos**

46.94

**Esimerkki 0.4169**

[187.902, 19.84, 159.537, 104.947, 192.383, 61.994, 187.71, 163.375, 66.199, -45.781]

**Tulos**

109.811

**Esimerkki 0.4170**

[177.048, 212.966, 182.746, 113.324, -46.019, 25.338]

**Tulos**

110.9

**Esimerkki 0.4171**

[148.542, 57.242, 56.249, 73.5, -52.503, 40.315, 161.959, 143.14, 186.95, -29.613]

**Tulos**

78.578

**Esimerkki 0.4172**

[218.203, 48.573, -89.318]

**Tulos**

59.153

**Esimerkki 0.4173**

[186.566, -69.519, 103.877, 84.507, 217.205, 81.764, 10.501, 105.596, 208.834, -99.939]

**Tulos**

82.939

**Esimerkki 0.4174**

[-71.31, 39.577, 13.088, -64.447, -23.339]

**Tulos**

-21.286

**Esimerkki 0,4175**

[-0.712, 182.487, 90.724, 64.971, 88.04, -82.156]

**Tulos**

57.226

**Esimerkki 0.4176**

[51.663, -9.103, 32.018, 39.252, 181.912, 102.524, 117.004]

**Tulos**

73.61

**Esimerkki 0.4177**

[81.319, 189.474, -90.547, 249.359]

**Tulos**

107.401

**Esimerkki 0.4178**

[-68.116, 53.386, 56.973]

**Tulos**

14.081

**Esimerkki 0.4179**

[4.308, -60.738, -11.223, 134.912]

**Tulos**

16.815

**Esimerkki 0.4180**

[43.213, 89.267, 70.912, 151.78, 105.192, -23.468, -50.833, 131.406]

**Tulos**

64.684

**Esimerkki 0,4181**

[-98.148, 101.327, 2.274, -17.364, 105.751]

**Tulos**

18.768

**Esimerkki 0.4182**

[-2.425, -41.007, 142.975, 117.593, 142.875, -69.307, -38.932, 92.631, 158.921, 87.117]

**Tulos**

59.044

**Esimerkki 0,4183**

[205.331, 212.917, 143.657, 235.033, -83.9, 54.057, 88.002, 20.22]

**Tulos**

109.415

**Esimerkki 0.4184**

[177.053, 85.948, 179.772, 186.021, 93.115, 123.832, 96.246, -72.195, 98.396]

**Tulos**

107.576

**Esimerkki 0,4185**

[234.845, 147.416, -70.399, 85.937, -81.106, 42.946, 39.64]

**Tulos**

57.04

**Esimerkki 0,4186**

[104.543, 106.282, 118.886, 148.106, 22.319, -0.743, 147.71, 79.525, 143.437]

**Tulos**

96.674

**Esimerkki 0,4187**

[-8.774, 60.206, 87.285, 104.039, 150.203, 180.644, 173.336, 2.861, -46.764, 91.335]

**Tulos**

79.437

**Esimerkki 0.4188**

[8.832, 214.963, 19.142, 138.647, -39.32, 107.345, 42.493, 2.642]

**Tulos**

61.843

**Esimerkki 0.4189**

[132.674, -31.96, 241.18, 242.626, 214.009, 240.556, 7.221]

**Tulos**

149.472

**Esimerkki 0.4190**

[51.355, 33.6, 155.027]

**Tulos**

79.994

**Esimerkki 0,4191**

[-38.473, 124.89, 31.278, 102.565, 206.177, -68.609]

**Tulos**

59.638

**Esimerkki 0,4192**

[147.533, -75.226, 95.038, 210.463, 189.565, -0.611, 238.251, 77.388, 157.353, 136.831]

**Tulos**

117.658

**Esimerkki 0,4193**

[-74.318, 134.526, 111.234, 221.516, 216.098, 46.965, 20.36, -84.978, 194.799]

**Tulos**

87.356

**Esimerkki 0.4194**

[155.541, 20.747, 215.072, 174.183, 247.226]

**Tulos**

162.554

**Esimerkki 0,4195**

[192.722, 65.944, 10.138, 68.805, 21.039, 248.545, 103.754, 205.84, 12.475]

**Tulos**

103.251

**Esimerkki 0,4196**

[17.792, -87.519, 126.087, -52.176, 157.829, -45.206, 173.143, 91.596]

**Tulos**

47.693

**Esimerkki 0,4197**

[120.014, 56.117, 156.463, 48.553, 51.746, 239.968, 138.174]

**Tulos**

115.862

**Esimerkki 0.4198**

[220.408, -6.206, -65.535, 172.676, 4.037, 170.408, 123.965]

**Tulos**

88.536

**Esimerkki 0.4199**

[157.577, -10.718, -88.277, 229.627, 163.457, 37.559, 93.4, 93.428, 73.861, -39.172]

**Tulos**

71.074

**Esimerkki 0.4200**

[133.415, 67.065, 27.652, 40.378, -10.416, 232.527, 240.997, 188.159]

**Tulos**

114.972

**Esimerkki 0.4201**

[235.564, 119.951, 125.403, 4.13, 181.236, 68.992, 243.447, -38.958]

**Tulos**

117.471

**Esimerkki 0.4202**

[183.558, 187.116, 28.717, -0.419]

**Tulos**

99.743

**Esimerkki 0.4203**

[-14.443, 90.675, 90.727, 170.548, 139.517, 72.499, 144.489, 89.078, 211.235, 75.32]

**Tulos**

106.964

**Esimerkki 0.4204**

[61.496, -87.882, -32.053, 15.704, 163.473, 98.315, 249.559]

**Tulos**

66.945

**Esimerkki 0.4205**

[187.767, 50.187, 134.284]

**Tulos**

124.079

**Esimerkki 0.4206**

[37.259, 208.225, 95.819, 205.221, 164.82, 101.837, -95.921, 112.447]

**Tulos**

103.713

**Esimerkki 0.4207**

[-8.126, 2.168]

**Tulos**

-2.979

**Esimerkki 0.4208**

[-77.484, 33.631, -59.334, -10.915, 19.02, 19.536]

**Tulos**

-12.591

**Esimerkki 0.4209**

[243.009, 114.471]

**Tulos**

178.74

**Esimerkki 0.4210**

[115.492, 195.984, 191.814, -42.812, 103.344, 158.29, 104.369]

**Tulos**

118.069

**Esimerkki 0.4211**

[-71.721, 28.228, -65.343, 95.366, 238.246]

**Tulos**

44.955

**Esimerkki 0.4212**

[57.499, 185.234, 90.019, 115.251]

**Tulos**

112.001

**Esimerkki 0.4213**

[-4.447, 39.811]

**Tulos**

17.682

**Esimerkki 0.4214**

[-76.794, -53.567, 105.147, 107.691, -72.23, 154.508, -2.909, 77.452]

**Tulos**

29.912

**Esimerkki 0.4215**

[55.14, -51.137]

**Tulos**

2.002

**Esimerkki 0.4216**

[-10.712, 211.213, 99.137, -65.274, 193.066]

**Tulos**

85.486

**Esimerkki 0.4217**

[-3.572, 211.092]

**Tulos**

103.76

**Esimerkki 0.4218**

[108.874, 56.014, 148.045, 246.685, 115.853, -2.791, 249.053, -51.407, 231.081, 57.763]

**Tulos**

115.917

**Esimerkki 0.4219**

[37.089, 158.917, 113.57]

**Tulos**

103.192

**Esimerkki 0,4220**

[198.525, -60.69, 100.611, 244.099, 235.104]

**Tulos**

143.53

**Esimerkki 0,4221**

[23.873, -72.557, 203.352, -82.448, 227.375, 34.127]

**Tulos**

55.62

**Esimerkki 0.4222**

[-21.617, 220.257, 168.97, -35.044, 108.975]

**Tulos**

88.308

**Esimerkki 0,4223**

[150.3, 163.811, 117.614, -37.314, -69.868, -92.471]

**Tulos**

38.679

**Esimerkki 0,4224**

[116.498, 208.607, 15.647, 193.92, -41.359, 168.883, -58.07, -70.958, 85.363]

**Tulos**

68.726

**Esimerkki 0,4225**

[152.737, 14.139, -96.045, 54.146, -49.502, 21.499]

**Tulos**

16.162

**Esimerkki 0,4226**

[-49.797, -85.057, 231.407, 29.347, 55.776, 2.207, 79.4, 224.768]

**Tulos**

61.006

**Esimerkki 0,4227**

[192.7, 217.322, 198.945, 7.376]

**Tulos**

154.086

**Esimerkki 0,4228**

[-4.287, 128.529, 195.63, -12.431, 117.899]

**Tulos**

85.068

**Esimerkki 0,4229**

[-44.242, 55.956, 137.808, 184.661]

**Tulos**

83.546

**Esimerkki 0,4230**

[-64.713, 164.725, 116.739, -82.713, -93.628, 101.583, -14.634, 241.923, 156.284, 101.362]

**Tulos**

62.693

**Esimerkki 0.4231**

[245.222, 27.783, -34.384, 246.269, 117.859, 29.27, 160.8, 102.055]

**Tulos**

111.859

**Esimerkki 0.4232**

[186.794, 225.01, 106.067, -5.158, 5.493, 217.287, 122.049, -97.024]

**Tulos**

95.065

**Esimerkki 0,4233**

[-12.417, -5.399, 190.032, 83.698, -34.784]

**Tulos**

44.226

**Esimerkki 0.4234**

[-78.939, -97.125, -18.679]

**Tulos**

-64.914

**Esimerkki 0,4235**

[-75.579, -19.294, 243.752, 167.559, 86.218, 48.102, 28.694, 31.259, 182.995]

**Tulos**

77.078

**Esimerkki 0,4236**

[196.5, 175.311, 53.002, 42.547]

**Tulos**

116.84

**Esimerkki 0.4237**

[-20.892, -22.579, 234.721, 132.379, 180.601, 40.909]

**Tulos**

90.856

**Esimerkki 0.4238**

[117.079, 249.28, 9.217, -86.446, -49.06, 73.452, 202.218, 118.516]

**Tulos**

79.282

**Esimerkki 0.4239**

[229.103, 155.669]

**Tulos**

192.386

**Esimerkki 0,4240**

[-57.641, 107.594, -29.644, 121.839, -3.844]

**Tulos**

27.661

**Esimerkki 0,4241**

[218.46, 7.937, 155.624, 82.813, 93.516]

**Tulos**

111.67

**Esimerkki 0.4242**

[-99.122, 150.232, 197.036, 229.069, 169.673, 249.51, 183.525, 167.158, -10.359, -6.982]

**Tulos**

122.974

**Esimerkki 0,4243**

[-61.905, -98.66, 90.472, 237.317, 5.243, 196.933]

**Tulos**

61.567

**Esimerkki 0.4244**

[30.529, 246.668, 87.652, 193.49, 0.009]

**Tulos**

111.67

**Esimerkki 0,4245**

[3.556, 65.177]

**Tulos**

34.366

**Esimerkki 0,4246**

[9.892, -80.221, -9.521, 194.404, -69.091, 117.569, 61.484]

**Tulos**

32.074

**Esimerkki 0,4247**

[222.89, 202.492]

**Tulos**

212.691

**Esimerkki 0.4248**

[98.834, 143.231, 35.995, -64.696]

**Tulos**

53.341

**Esimerkki 0.4249**

[-34.306, 40.947, 218.854, 86.983, 29.356, 72.179, -26.301, 69.421, -55.629, 8.753]

**Tulos**

41.026

**Esimerkki 0,4250**

[132.217, 18.037, 8.968, 114.636, 112.077, 41.356, 31.027, 52.692]

**Tulos**

63.876

**Esimerkki 0.4251**

[36.144, 87.029, 18.025, -32.143, 69.731, -41.243]

**Tulos**

22.924

**Esimerkki 0.4252**

[171.666, -76.948, 143.763]

**Tulos**

79.494

**Esimerkki 0.4253**

[6.899, -52.487, 98.702, -72.88, 61.749, 183.941, 19.768]

**Tulos**

35.099

**Esimerkki 0,4254**

[-37.419, -54.704, 99.937]

**Tulos**

2.605

**Esimerkki 0,4255**

[218.135, -94.077, -52.486, 118.654, -23.828]

**Tulos**

33.28

**Esimerkki 0,4256**

[-81.785, -44.121]

**Tulos**

-62.953

**Esimerkki 0.4257**

[246.737, 248.17, -58.021, 103.791, 157.836, -37.1, 243.277, 62.463]

**Tulos**

120.894

**Esimerkki 0.4258**

[196.208, 209.7, -6.181]

**Tulos**

133.242

**Esimerkki 0.4259**

[64.128, 43.751, 33.805, 63.095, -68.833]

**Tulos**

27.189

**Esimerkki 0,4260**

[143.937, 218.668, -88.238, 214.387, 229.552, -17.821, 136.927, -56.889]

**Tulos**

97.565

**Esimerkki 0,4261**

[-75.441, -1.051, 96.771]

**Tulos**

6.76

**Esimerkki 0.4262**

[-40.09, 163.257, 225.717]

**Tulos**

116.295

**Esimerkki 0,4263**

[13.21, 76.551, 51.016, 230.763, 149.792, 157.216, 117.414, 144.272, 5.805, 118.165]

**Tulos**

106.42

**Esimerkki 0.4264**

[-69.847, -90.337, 2.662, 218.155, 223.773]

**Tulos**

56.881

**Esimerkki 0,4265**

[28.703, 26.223, 100.033, -80.326, -33.283, 241.038, 159.239, -82.352, -90.916]

**Tulos**

29.818

**Esimerkki 0,4266**

[-16.12, 27.442, -69.009, 28.682, 110.187, 230.261, -76.728, 136.926]

**Tulos**

46.455

**Esimerkki 0,4267**

[-8.294, -57.878, 203.902, -7.566, 240.642, 116.681, 198.337, 147.024, 138.21, -37.821]

**Tulos**

93.324

**Esimerkki 0.4268**

[92.4, 143.083, 85.742, 237.139, 210.441, 2.102, -31.164, 118.133]

**Tulos**

107.234

**Esimerkki 0.4269**

[84.166, 81.558, -89.721]

**Tulos**

25.334

**Esimerkki 0,4270**

[141.055, -38.856, 55.75]

**Tulos**

52.65

**Esimerkki 0,4271**

[-85.708, 82.276, 129.848]

**Tulos**

42.139

**Esimerkki 0.4272**

[-33.948, 125.839, 2.172, -70.052, 187.563, 62.591]

**Tulos**

45.694

**Esimerkki 0.4273**

[-67.542, 65.934, 223.305, 25.694, 159.037]

**Tulos**

81.286

**Esimerkki 0.4274**

[-83.223, 122.947, 181.072, 38.959, 135.649, 56.109, -35.425, 245.127, -27.469, -36.231]

**Tulos**

59.752

**Esimerkki 0,4275**

[-5.792, 31.641, -19.735, 53.806, -98.742, -89.611]

**Tulos**

-21.406

**Esimerkki 0,4276**

[-18.748, 54.644, 134.427, -61.607, -53.525, 0.987]

**Tulos**

9.363

**Esimerkki 0.4277**

[-45.201, 161.25, -67.093, 105.259, 110.499, 224.516, -55.166, 11.51]

**Tulos**

55.697

**Esimerkki 0.4278**

[-17.042, 104.048, 34.069, 184.267]

**Tulos**

76.336

**Esimerkki 0.4279**

[25.575, 140.91, -20.665, -6.242, 70.716]

**Tulos**

42.059

**Esimerkki 0.4280**

[130.499, 23.812, 188.301, 110.955, 131.399, 21.009, -0.771, -10.069, 198.135]

**Tulos**

88.141

**Esimerkki 0.4281**

[-84.485, 125.356, 186.954, 141.378, 33.445, 175.804, 90.426, 75.923]

**Tulos**

93.1

**Esimerkki 0.4282**

[86.217, 14.473, 153.852]

**Tulos**

84.847

**Esimerkki 0.4283**

[-36.752, 139.241, -45.565, -67.399]

**Tulos**

-2.619

**Esimerkki 0.4284**

[157.896, -9.242, -34.082]

**Tulos**

38.191

**Esimerkki 0,4285**

[217.166, 115.156, -10.911, 183.125, -16.943, 175.079, 108.195, -38.436, 26.241]

**Tulos**

84.297

**Esimerkki 0,4286**

[48.122, -2.158, 12.547, -39.257, -62.936, 120.37, 133.697, 68.132, 93.801]

**Tulos**

41.369

**Esimerkki 0.4287**

[26.527, 232.13, -18.473, 181.37, -41.239, -76.629, 148.596]

**Tulos**

64.612

**Esimerkki 0.4288**

[-76.205, -60.587, -92.288, 177.088, -18.201]

**Tulos**

-14.039

**Esimerkki 0.4289**

[63.173, 150.548, 122.229, 58.139]

**Tulos**

98.522

**Esimerkki 0,4290**

[150.295, 154.117, 236.92, 91.629, 114.978, -23.848]

**Tulos**

120.682

**Esimerkki 0,4291**

[173.903, 103.626, -96.508, 63.59, 44.234, -81.913, 189.138]

**Tulos**

56.581

**Esimerkki 0.4292**

[45.375, 154.428]

**Tulos**

99.902

**Esimerkki 0.4293**

[93.34, 211.631, 173.556, -91.68, 236.096]

**Tulos**

124.589

**Esimerkki 0.4294**

[248.646, 18.139, -55.179, 138.121, -33.917, 57.471, 237.952, -43.899, -10.724]

**Tulos**

61.846

**Esimerkki 0,4295**

[185.454, -90.334]

**Tulos**

47.56

**Esimerkki 0.4296**

[6.367, 41.707, 104.418, -52.112, 226.41, 41.357, 214.338, 67.261, 63.933, 237.862]

**Tulos**

95.154

**Esimerkki 0,4297**

[228.717, -84.011]

**Tulos**

72.353

**Esimerkki 0.4298**

[105.63, -65.898, 96.962, -88.226, 172.194, 104.307, 104.654, 247.144, -70.229, 5.708]

**Tulos**

61.225

**Esimerkki 0.4299**

[-65.295, 113.842, -82.683, 235.996, 143.686, 31.127, 135.386, 217.657, -87.331]

**Tulos**

71.376

**Esimerkki 0,4300**

[120.163, 21.332, 13.22]

**Tulos**

51.572

**Esimerkki 0,4301**

[202.724, 129.438, -75.21, 114.102, 151.266]

**Tulos**

104.464

**Esimerkki 0.4302**

[21.756, -94.024]

**Tulos**

-36.134

**Esimerkki 0.4303**

[163.85, 231.97, 242.912, 109.111, 91.756]

**Tulos**

167.92

**Esimerkki 0.4304**

[80.225, 42.775, 245.206, -40.364, 244.919, 190.505, 107.785, -95.102, 93.166, -96.212]

**Tulos**

77.29

**Esimerkki 0,4305**

[-13.257, 146.496, -29.243, 127.931]

**Tulos**

57.982

**Esimerkki 0.4306**

[217.276, 69.181, 56.534, 10.472, 148.018, 38.673, -94.676, 241.577, -23.436, 45.907]

**Tulos**

70.953

**Esimerkki 0.4307**

[177.989, 115.566]

**Tulos**

146.778

**Esimerkki 0.4308**

[222.002, 99.941]

**Tulos**

160.972

**Esimerkki 0.4309**

[202.534, -3.362, -55.369, 216.92, 155.911]

**Tulos**

103.327

**Esimerkki 0.4310**

[5.563, 135.417, -10.898, 169.517, 176.909, 193.223]

**Tulos**

111.622

**Esimerkki 0,4311**

[-54.086, 36.013, 103.837, 115.807, 94.889, -45.835, -14.174]

**Tulos**

33.779

**Esimerkki 0.4312**

[31.862, 130.424, 96.281, 202.822, 24.529, 95.519, 51.142]

**Tulos**

90.368

**Esimerkki 0.4313**

[-92.32, -37.929, -9.194, 21.353, 35.008, 201.653, -27.303, 189.928, 109.737]

**Tulos**

43.437

**Esimerkki 0.4314**

[-97.707, -72.74, 182.248, 67.464, 198.86]

**Tulos**

55.625

**Esimerkki 0.4315**

[136.024, 191.168, 157.037, -89.703, 28.159, 159.426, 64.25, 115.458, 95.064]

**Tulos**

95.209

**Esimerkki 0.4316**

[120.0, -76.917]

**Tulos**

21.542

**Esimerkki 0.4317**

[185.43, -65.359, -83.971, 30.359, -1.788, 181.168, 210.362, -90.041, -26.224, 239.651]

**Tulos**

57.959

**Esimerkki 0.4318**

[105.656, 162.482, 9.618, 180.797, 27.572, 157.868, 224.435]

**Tulos**

124.061

**Esimerkki 0.4319**

[194.072, 19.102, -63.7, -10.9]

**Tulos**

34.643

**Esimerkki 0,4320**

[179.344, 197.418, 69.052, -71.022, 128.196, -57.681, 120.123, -47.738]

**Tulos**

64.712

**Esimerkki 0,4321**

[-99.943, -18.081, 178.76, -29.169, 195.575, 193.453, -29.151, -49.794, 52.645]

**Tulos**

43.811

**Esimerkki 0,4322**

[-33.318, 68.203, 225.558, 72.455, 244.203, 54.36, 151.826]

**Tulos**

111.898

**Esimerkki 0.4323**

[63.644, 132.112, 32.756, -40.069, -49.873, 133.008, 10.612]

**Tulos**

40.313

**Esimerkki 0.4324**

[12.545, -38.654]

**Tulos**

-13.054

**Esimerkki 0,4325**

[140.249, 34.526, 18.603, -30.895, 217.753, 95.574, -31.568, -38.575, 220.01]

**Tulos**

69.52

**Esimerkki 0,4326**

[131.887, 33.326, -77.484, 0.05]

**Tulos**

21.945

**Esimerkki 0,4327**

[101.464, 162.016, -61.742, 49.455, 47.439, 39.174, -30.228, 11.215, -59.37]

**Tulos**

28.825

**Esimerkki 0,4328**

[-48.824, 103.022, 39.496, -9.796]

**Tulos**

20.975

**Esimerkki 0.4329**

[63.888, 183.194, 143.942, 27.732, -79.234]

**Tulos**

67.904

**Esimerkki 0,4330**

[34.678, 109.562]

**Tulos**

72.12

**Esimerkki 0,4331**

[203.498, -79.59, -73.767, -65.942, -8.693]

**Tulos**

-4.899

**Esimerkki 0,4332**

[12.155, 204.528, 85.84, 66.186]

**Tulos**

92.177

**Esimerkki 0,4333**

[214.7, 128.125, 162.523, 199.699]

**Tulos**

176.262

**Esimerkki 0,4334**

[-47.825, 2.521, -62.863, 8.438, 210.92, 95.93, -95.671]

**Tulos**

15.921

**Esimerkki 0,4335**

[-75.179, 16.007, 168.16, -50.911, -93.426, 16.977, 148.591, 46.605, -61.756]

**Tulos**

12.785

**Esimerkki 0,4336**

[69.958, -95.132, 3.101, -82.932, -24.957, 69.445, 147.916]

**Tulos**

12.486

**Esimerkki 0.4337**

[168.793, 81.166, 97.445, -23.723, 15.662, -39.416, -69.94]

**Tulos**

32.855

**Esimerkki 0,4338**

[36.936, -84.239, 129.714, -72.915, 191.701, -61.033, 2.407, -5.58, 157.689]

**Tulos**

32.742

**Esimerkki 0,4339**

[215.207, 3.327, 29.037, -1.193]

**Tulos**

61.594

**Esimerkki 0,4340**

[-73.206, -14.222, 133.004, 204.681, 178.571, -87.802, -22.102, 14.535]

**Tulos**

41.682

**Esimerkki 0,4341**

[-25.217, 207.852, 53.965, 203.61]

**Tulos**

110.053

**Esimerkki 0,4342**

[-54.367, -89.769, 132.37, 189.697, 54.778, 153.995]

**Tulos**

64.451

**Esimerkki 0,4343**

[-0.057, 246.507, 159.815, -39.339, 174.445, 81.743, 89.753, -64.457, -33.64, 83.218]

**Tulos**

69.799

**Esimerkki 0.4344**

[158.171, -87.878, 1.115, 231.81, 44.316, 15.817]

**Tulos**

60.558

**Esimerkki 0,4345**

[116.726, 54.909, 89.53]

**Tulos**

87.055

**Esimerkki 0,4346**

[209.76, 2.044, 14.651, 206.465, 47.089, -40.192, -95.23, 52.993]

**Tulos**

49.698

**Esimerkki 0,4347**

[95.57, 167.946, -18.475, 52.08]

**Tulos**

74.28

**Esimerkki 0.4348**

[-46.477, 194.636, -33.389, 107.268]

**Tulos**

55.509

**Esimerkki 0,4349**

[223.315, 125.06, -18.815, 110.038]

**Tulos**

109.9

**Esimerkki 0,4350**

[-45.808, 127.428, -65.411, 215.773, -60.725, 37.147]

**Tulos**

34.734

**Esimerkki 0.4351**

[76.807, 185.792, 164.256, 34.761, 25.255, 242.503, -52.049]

**Tulos**

96.761

**Esimerkki 0.4352**

[-78.249, 171.613, 113.954, 201.716, 200.834]

**Tulos**

121.974

**Esimerkki 0.4353**

[16.802, 226.182, 91.395]

**Tulos**

111.46

**Esimerkki 0.4354**

[83.11, 93.052, 134.618]

**Tulos**

103.593

**Esimerkki 0,4355**

[-66.288, 234.53, 204.285, 136.439]

**Tulos**

127.242

**Esimerkki 0.4356**

[233.662, 111.478, 105.764, 0.434, 13.298, -94.959, -15.334, 57.322]

**Tulos**

51.458

**Esimerkki 0.4357**

[176.95, -92.841, -33.018, 118.498, 111.391, 220.623, 48.282]

**Tulos**

78.555

**Esimerkki 0.4358**

[2.994, 206.185, -78.434, 75.704, 214.018, -58.807, -3.311, 145.248, 203.983, 184.978]

**Tulos**

89.256

**Esimerkki 0.4359**

[17.937, 84.657, 31.917, -38.543, -13.699, 203.232, 92.297, -51.317]

**Tulos**

40.81

**Esimerkki 0,4360**

[-19.632, -75.567, 172.436, -73.584, 1.165]

**Tulos**

0.964

**Esimerkki 0,4361**

[125.624, -3.666, 246.491, -65.002, -44.792, 89.409, 17.159, 29.644, 76.824, 7.394]

**Tulos**

47.908

**Esimerkki 0,4362**

[77.558, 212.183, 22.334, -13.652, 179.857, 11.818, -55.27, 238.171, -7.472]

**Tulos**

73.947

**Esimerkki 0,4363**

[-16.277, -33.061, -26.18, 140.323, 236.57, -28.594, -42.472, -57.826, 158.577, -49.267]

**Tulos**

28.179

**Esimerkki 0.4364**

[151.474, -70.891, 203.3, 185.996]

**Tulos**

117.47

**Esimerkki 0,4365**

[-81.517, 126.001, 203.19, 236.819, 36.037, 152.691, -1.444, -37.296]

**Tulos**

79.31

**Esimerkki 0,4366**

[168.643, -2.995, 18.22, 148.218, -63.594, 182.707, -41.034, 26.796, 234.636, -19.052]

**Tulos**

65.254

**Esimerkki 0,4367**

[54.581, 167.635, 218.629, -54.812, 36.721, -46.303, 36.334, 142.409]

**Tulos**

69.399

**Esimerkki 0.4368**

[7.487, 96.329, 178.464, 210.823, 121.521, 229.021, -66.53, -79.514]

**Tulos**

87.2

**Esimerkki 0.4369**

[93.313, 229.534, 97.742, 249.167, 93.275, 65.841, -24.118, 57.312]

**Tulos**

107.758

**Esimerkki 0,4370**

[-23.758, -80.058, 138.371, 113.616, 208.431, -0.071]

**Tulos**

59.422

**Esimerkki 0,4371**

[-50.848, 135.142, 22.977, -67.121, -70.758, -56.177]

**Tulos**

-14.464

**Esimerkki 0.4372**

[169.165, 20.546, 83.84, -83.69, -12.496, 121.319, 33.638, -28.088, 111.189]

**Tulos**

46.158

**Esimerkki 0,4373**

[-7.748, 138.413, 32.978, 224.023, 145.162]

**Tulos**

106.566

**Esimerkki 0.4374**

[28.183, 142.599, 154.348, 0.839, 53.995, -28.433, -90.398]

**Tulos**

37.305

**Esimerkki 0,4375**

[-74.264, 96.188, -6.423, 201.755, 166.517, -96.689, 172.493, 141.825]

**Tulos**

75.175

**Esimerkki 0,4376**

[-10.981, -92.427, 131.322, 80.747, 163.977, 172.881]

**Tulos**

74.253

**Esimerkki 0.4377**

[24.488, -71.475, -82.586, -35.05, -32.155, 191.68, 41.643, 243.489]

**Tulos**

35.004

**Esimerkki 0.4378**

[147.963, 63.529]

**Tulos**

105.746

**Esimerkki 0.4379**

[-15.345, -96.039, 150.077, 22.109, 137.321, 162.873]

**Tulos**

60.166

**Esimerkki 0.4380**

[49.462, -87.869, 36.985, 94.248, 175.789]

**Tulos**

53.723

**Esimerkki 0,4381**

[156.794, 36.269, -64.951, -51.056, 168.473, 232.295, -31.459, 95.954]

**Tulos**

67.79

**Esimerkki 0,4382**

[201.308, -98.391, -17.694, -27.303, -99.872]

**Tulos**

-8.39

**Esimerkki 0,4383**

[195.092, 151.243, -65.513, 55.009, -76.715, 113.276, 233.246, -91.18, -2.125]

**Tulos**

56.926

**Esimerkki 0,4384**

[85.366, 103.422, 117.646]

**Tulos**

102.145

**Esimerkki 0,4385**

[141.861, -8.905, -20.756, -36.74, 151.889, 69.077, 159.175, -34.54, 155.465, -85.237]

**Tulos**

49.129

**Esimerkki 0.4386**

[-14.561, 123.11, -83.173, 213.076, 85.249, 191.57, 13.863]

**Tulos**

75.591

**Esimerkki 0,4387**

[143.011, 32.952, 55.154]

**Tulos**

77.039

**Esimerkki 0.4388**

[208.678, 219.921, 113.318, 23.83, -42.88, -32.702, -36.191, 117.84, 91.988]

**Tulos**

73.756

**Esimerkki 0.4389**

[-75.918, 200.289]

**Tulos**

62.185

**Esimerkki 0,4390**

[-65.755, -66.911, -64.358]

**Tulos**

-65.675

**Esimerkki 0,4391**

[205.849, 33.047, 44.849, 123.064, 166.617, -40.315, 209.324, 166.773, 233.158, 185.368]

**Tulos**

132.773

**Esimerkki 0.4392**

[103.918, 125.608, 205.079, 103.427, -21.898, -46.506]

**Tulos**

78.271

**Esimerkki 0.4393**

[88.818, 93.005, 194.091, 24.373]

**Tulos**

100.072

**Esimerkki 0,4394**

[193.91, 159.502, 226.363, 152.723, 47.512, 74.563, 40.762, -60.456, 87.324, 80.779]

**Tulos**

100.298

**Esimerkki 0,4395**

[6.311, 82.667, -21.764, -1.53, 223.997, 196.953, 189.246]

**Tulos**

96.554

**Esimerkki 0,4396**

[153.375, -84.291]

**Tulos**

34.542

**Esimerkki 0,4397**

[182.818, -14.129, -67.054, 203.114]

**Tulos**

76.187

**Esimerkki 0.4398**

[60.718, 207.344, -54.17, 131.57]

**Tulos**

86.366

**Esimerkki 0.4399**

[-90.211, -60.08, 99.87, 18.704, 197.269, 173.722, 168.875]

**Tulos**

72.593

**Esimerkki 0.4400**

[-80.366, -94.07, -22.405, 179.649, 52.28]

**Tulos**

7.018

**Esimerkki 0.4401**

[-64.076, 127.962, 124.143, 107.867, 241.635]

**Tulos**

107.506

**Esimerkki 0.4402**

[112.303, 240.968, 30.647, -71.557, 193.879, -78.228, 112.661, 141.959, -66.425, 115.618]

**Tulos**

73.182

**Esimerkki 0.4403**

[124.333, 5.477, -53.787, 226.538, -40.577, -43.102, 214.118, 125.785, 151.837]

**Tulos**

78.958

**Esimerkki 0.4404**

[74.745, 42.031, 12.239, 127.71, 152.019, -84.989, 156.129, 90.627]

**Tulos**

71.314

**Esimerkki 0,4405**

[-11.4, 44.02, 112.619, -80.199]

**Tulos**

16.26

**Esimerkki 0.4406**

[-17.442, 76.299, 67.722]

**Tulos**

42.193

**Esimerkki 0.4407**

[-16.311, -32.964, -68.665, 207.661]

**Tulos**

22.43

**Esimerkki 0.4408**

[0.401, 29.557, -52.715, -10.743, 150.825, -72.887, 57.093, 232.129, 247.699]

**Tulos**

64.595

**Esimerkki 0.4409**

[84.631, -69.975, 191.456, -87.971]

**Tulos**

29.535

**Esimerkki 0.4410**

[114.642, 144.995, 186.404, 230.143, 103.845, 159.661, 118.066, 134.424, -10.966, 114.294]

**Tulos**

129.551

**Esimerkki 0.4411**

[32.313, 91.775, 123.32, 237.186, 168.309, 156.228, -29.149, 144.075, 164.301, 175.043]

**Tulos**

126.34

**Esimerkki 0.4412**

[108.236, 28.473, -49.489, -20.105, -55.168]

**Tulos**

2.389

**Esimerkki 0.4413**

[88.724, 110.019, 248.008, 183.134, 75.695]

**Tulos**

141.116

**Esimerkki 0.4414**

[-71.731, 44.88, -17.857]

**Tulos**

-14.903

**Esimerkki 0.4415**

[82.992, 235.629, -36.094, -43.326, 27.531, -12.091, 212.495, 34.388]

**Tulos**

62.69

**Esimerkki 0.4416**

[78.502, 32.106, -90.713, -70.258]

**Tulos**

-12.591

**Esimerkki 0.4417**

[225.871, 161.204, -82.717, -77.294]

**Tulos**

56.766

**Esimerkki 0.4418**

[37.873, 50.33, 177.685, 116.698, 183.045, 0.409, -57.894]

**Tulos**

72.592

**Esimerkki 0.4419**

[122.936, 88.264, 22.019, -6.709, -70.226, 138.515, -34.109, 137.562]

**Tulos**

49.781

**Esimerkki 0.4420**

[2.258, 234.144, 166.894, -75.514, -15.024, -48.211, -21.893, 66.767, -9.283, -11.226]

**Tulos**

28.891

**Esimerkki 0,4421**

[21.676, 24.735, 150.751, -97.819, 85.382, 131.583, 162.831, 227.834]

**Tulos**

88.372

**Esimerkki 0.4422**

[68.796, 121.844, 52.463, 241.577, 231.64, 175.658, 99.831]

**Tulos**

141.687

**Esimerkki 0.4423**

[156.951, 30.808, 141.058, 178.168, 65.522, -4.456, -28.233, 139.967]

**Tulos**

84.973

**Esimerkki 0.4424**

[-64.822, 73.832, 12.429, 21.749, 184.434, 98.367, 241.998, 67.573, 115.104]

**Tulos**

83.407

**Esimerkki 0,4425**

[247.544, 20.937, -21.651, 118.479, -32.116]

**Tulos**

66.639

**Esimerkki 0,4426**

[98.331, 146.867, -44.972, 175.209, 154.846, -33.41, 110.339, 229.773, 103.873]

**Tulos**

104.54

**Esimerkki 0.4427**

[-1.31, 169.522, -26.172, 111.289]

**Tulos**

63.332

**Esimerkki 0.4428**

[-43.846, 152.932, 66.919]

**Tulos**

58.668

**Esimerkki 0.4429**

[145.426, -6.689, 190.674, 234.398]

**Tulos**

140.952

**Esimerkki 0.4430**

[30.431, -25.099, 119.724, 154.511, 38.206]

**Tulos**

63.555

**Esimerkki 0,4431**

[149.806, 232.621, 119.06]

**Tulos**

167.162

**Esimerkki 0.4432**

[224.557, 29.245, 110.233, 34.667, 210.584, 162.813, -56.813, 111.751]

**Tulos**

103.38

**Esimerkki 0,4433**

[-83.292, 157.615, 231.938]

**Tulos**

102.087

**Esimerkki 0,4434**

[-29.848, 95.809, 223.477, 112.976]

**Tulos**

100.604

**Esimerkki 0,4435**

[233.914, 80.577, -53.002, 82.501, 98.96, -55.762, -1.638]

**Tulos**

55.079

**Esimerkki 0.4436**

[-51.918, 100.084, -74.934, -95.889]

**Tulos**

-30.664

**Esimerkki 0.4437**

[92.325, 175.221, 2.069]

**Tulos**

89.872

**Esimerkki 0,4438**

[229.99, -32.685, -4.59, -60.366, 217.034, -90.514]

**Tulos**

43.145

**Esimerkki 0.4439**

[217.523, 92.701, -55.65, -89.359, 55.742, 158.634, -31.883, 206.554]

**Tulos**

69.283

**Esimerkki 0.4440**

[197.73, 206.105, 102.402, 38.741, 116.866, 78.231, 138.568]

**Tulos**

125.52

**Esimerkki 0.4441**

[-5.459, 95.856]

**Tulos**

45.198

**Esimerkki 0.4442**

[44.791, 180.764, 23.599, 188.419, 46.614, 226.828, 120.348]

**Tulos**

118.766

**Esimerkki 0.4443**

[191.023, -82.449, 205.733, 222.567, 173.38, 144.076]

**Tulos**

142.388

**Esimerkki 0.4444**

[-41.362, 123.84, 236.661, -43.042, 53.399, 15.001, 10.159, 38.886, 74.298, 167.559]

**Tulos**

63.54

**Esimerkki 0.4445**

[-51.259, -73.416, -39.507]

**Tulos**

-54.727

**Esimerkki 0.4446**

[209.734, -51.392, 75.944, 48.058, 135.193, 102.099, 81.91, -59.836]

**Tulos**

67.714

**Esimerkki 0.4447**

[-46.917, 158.385, -7.145, 98.562, 156.985, 52.095, 130.667, -62.223]

**Tulos**

60.051

**Esimerkki 0.4448**

[-0.045, 18.716, 163.218, 150.247, -22.261, 63.849, -1.13]

**Tulos**

53.228

**Esimerkki 0.4449**

[116.074, 213.452, 86.981]

**Tulos**

138.836

**Esimerkki 0,4450**

[213.593, -62.079, -39.981]

**Tulos**

37.178

**Esimerkki 0.4451**

[-96.928, 56.862, 81.598, 99.958, 124.09]

**Tulos**

53.116

**Esimerkki 0.4452**

[224.259, 144.025]

**Tulos**

184.142

**Esimerkki 0.4453**

[192.043, 17.687]

**Tulos**

104.865

**Esimerkki 0.4454**

[-48.998, 150.571]

**Tulos**

50.787

**Esimerkki 0,4455**

[-31.241, 73.981, 127.71, 166.275, 35.028, -10.432]

**Tulos**

60.22

**Esimerkki 0.4456**

[154.342, -32.592]

**Tulos**

60.875

**Esimerkki 0.4457**

[-3.07, 84.881, -71.71, 233.544, -77.459, 231.383, 71.796, 189.943, 98.833, -62.965]

**Tulos**

69.518

**Esimerkki 0.4458**

[-52.02, 100.638, -20.981, 195.412, -57.479, -8.839, 82.687, 230.54, 113.853]

**Tulos**

64.868

**Esimerkki 0.4459**

[146.722, 73.779, -5.878, -97.834, -66.552, 97.41]

**Tulos**

24.608

**Esimerkki 0,4460**

[83.07, -0.908, 204.987, 135.371]

**Tulos**

105.63

**Esimerkki 0.4461**

[35.898, 5.888, -70.803, 39.487, -64.013, -5.472, 173.391, 229.669, 71.343, 153.543]

**Tulos**

56.893

**Esimerkki 0.4462**

[170.174, -94.712, -5.629, 200.789, 19.126]

**Tulos**

57.95

**Esimerkki 0,4463**

[38.343, 177.478, 120.174, -74.923, 98.159]

**Tulos**

71.846

**Esimerkki 0.4464**

[-32.085, 196.699, 121.959, -59.257, 217.604, -19.786, -96.793]

**Tulos**

46.906

**Esimerkki 0,4465**

[78.17, 189.722, -96.311, 136.993, 54.526, -61.624]

**Tulos**

50.246

**Esimerkki 0.4466**

[138.536, 98.407, -3.627, 12.87, -19.225, -91.943, -7.075, 218.144, 210.35]

**Tulos**

61.826

**Esimerkki 0,4467**

[149.451, 230.29, 56.327, -72.328, -73.276, -90.669, 206.191, 87.481]

**Tulos**

61.683

**Esimerkki 0.4468**

[232.393, 45.335, -50.042, 117.292, 146.083, -14.319, 52.385, 72.571]

**Tulos**

75.212

**Esimerkki 0.4469**

[-1.836, 181.786, 201.995, 236.588, 231.912, 4.96, -25.283, 157.641, 223.189, 157.143]

**Tulos**

136.81

**Esimerkki 0,4470**

[-39.873, 97.835, 55.039, -52.237]

**Tulos**

15.191

**Esimerkki 0,4471**

[34.546, 60.172]

**Tulos**

47.359

**Esimerkki 0.4472**

[-28.799, 227.744, 175.237, -27.797, 11.116, -31.767, 186.255, -39.515]

**Tulos**

59.059

**Esimerkki 0,4473**

[214.725, 33.194, 52.217, 211.697, 12.528, 168.134]

**Tulos**

115.416

**Esimerkki 0.4474**

[128.916, 203.766]

**Tulos**

166.341

**Esimerkki 0,4475**

[220.186, -39.883, 151.521, 51.982, 57.032, 203.609, 230.875, 167.996, -56.118]

**Tulos**

109.689

**Esimerkki 0,4476**

[-63.303, 176.359, 189.446, 122.223, 191.856, -4.463, 58.105]

**Tulos**

95.746

**Esimerkki 0.4477**

[107.185, 44.602, 211.189, 152.337, 47.089, -0.203, 3.234, -93.925, 93.86]

**Tulos**

62.819

**Esimerkki 0.4478**

[-15.474, 64.567, -15.512, 191.204, 69.845, -67.49, 233.251, 88.357]

**Tulos**

68.594

**Esimerkki 0.4479**

[133.901, 72.753, 175.111, 142.876, -70.179, 133.958, -90.363, -60.25, 201.114, -51.353]

**Tulos**

58.757

**Esimerkki 0.4480**

[138.866, 176.393, 67.875]

**Tulos**

127.711

**Esimerkki 0.4481**

[-40.016, 117.495]

**Tulos**

38.74

**Esimerkki 0.4482**

[27.929, 172.413, -97.533, -21.764, 119.338, 247.986, 76.266]

**Tulos**

74.948

**Esimerkki 0.4483**

[57.7, 168.939, 177.751, 182.067, 203.035]

**Tulos**

157.898

**Esimerkki 0.4484**

[179.702, 5.716, -42.593, 0.789, -44.015, 63.789, 245.118]

**Tulos**

58.358

**Esimerkki 0,4485**

[95.673, 239.34, -3.591, 0.271, 182.464, 115.131, 157.072]

**Tulos**

112.337

**Esimerkki 0.4486**

[42.592, 86.572, 210.718, -25.272, -87.393]

**Tulos**

45.443

**Esimerkki 0.4487**

[150.437, -3.837, 129.078, -54.453, -99.098, 200.922, 5.328, 29.431, 145.114]

**Tulos**

55.88

**Esimerkki 0.4488**

[248.385, -40.468, -97.132]

**Tulos**

36.928

**Esimerkki 0.4489**

[-63.876, 196.122, 95.796]

**Tulos**

76.014

**Esimerkki 0.4490**

[170.075, 38.205, 106.764]

**Tulos**

105.015

**Esimerkki 0,4491**

[56.514, -45.173, -45.263, 112.652]

**Tulos**

19.682

**Esimerkki 0.4492**

[-27.734, -69.975, 242.123]

**Tulos**

48.138

**Esimerkki 0.4493**

[26.145, -44.254, 127.581, 162.122, 82.003, 143.809, 96.47, 34.362, 71.469]

**Tulos**

77.745

**Esimerkki 0.4494**

[140.396, 51.9, -18.529, -74.292, 178.89, 197.292, 45.61, -29.629, 25.63]

**Tulos**

57.474

**Esimerkki 0,4495**

[72.882, 36.476, 231.44]

**Tulos**

113.599

**Esimerkki 0.4496**

[-2.772, 225.483, 211.749, 45.779, -82.623, 229.799, 107.783, 64.653]

**Tulos**

99.981

**Esimerkki 0,4497**

[-7.151, -9.873, 208.875, 227.477, 102.689, -9.211, -87.729, 58.21, 38.21, 183.337]

**Tulos**

70.483

**Esimerkki 0.4498**

[208.948, -27.477, 19.597, 87.978, 235.717, 131.297, 25.116, 54.348, 174.277, 179.787]

**Tulos**

108.959

**Esimerkki 0.4499**

[145.185, 118.59, 52.242, 148.526, 2.774, 248.876, -68.243, 199.455]

**Tulos**

105.926

**Esimerkki 0,4500**

[-50.44, -13.21, 117.874, 68.855, 166.922, 238.014, 191.515, -87.913]

**Tulos**

78.952

**Esimerkki 0.4501**

[-48.597, -49.199, 221.727, 89.162, 134.287, -66.444, -94.417, 101.402, -23.963, 170.849]

**Tulos**

43.481

**Esimerkki 0.4502**

[11.642, -39.595, 23.351, 168.447, 244.85, 108.958, 80.422, -14.774, 138.977]

**Tulos**

80.253

**Esimerkki 0.4503**

[-40.904, 153.618, 212.733, -60.996, 150.843]

**Tulos**

83.059

**Esimerkki 0.4504**

[83.591, 73.404, 81.734, -90.174, -5.429, 172.074, -47.713, 211.829, 232.468, 188.917]

**Tulos**

90.07

**Esimerkki 0.4505**

[243.864, -46.776, 196.173, 99.196]

**Tulos**

123.114

**Esimerkki 0.4506**

[-46.263, 155.924, 109.247, -33.261, 221.933, 21.841, -77.08, -89.305]

**Tulos**

32.88

**Esimerkki 0.4507**

[-72.933, -33.975, 105.915]

**Tulos**

-0.331

**Esimerkki 0.4508**

[-44.471, 208.445, 208.318, -34.134]

**Tulos**

84.54

**Esimerkki 0.4509**

[145.64, 167.175, -4.157, 242.474, 174.818]

**Tulos**

145.19

**Esimerkki 0.4510**

[110.206, 77.406]

**Tulos**

93.806

**Esimerkki 0.4511**

[101.494, -63.035, 144.277, 238.803]

**Tulos**

105.385

**Esimerkki 0.4512**

[88.456, 191.052]

**Tulos**

139.754

**Esimerkki 0.4513**

[-22.74, -40.145, 54.964, 106.885, 43.546, 143.68, -36.221, -23.89, 70.981, -43.289]

**Tulos**

25.377

**Esimerkki 0.4514**

[-56.965, 152.236, -42.308, 198.276, 104.282, 90.876, -51.888, 161.115, 193.887]

**Tulos**

83.279

**Esimerkki 0.4515**

[150.021, 161.126, 90.04, 167.259]

**Tulos**

142.112

**Esimerkki 0.4516**

[-12.758, -92.058, -38.156, -70.31, 151.88, 246.958]

**Tulos**

30.926

**Esimerkki 0.4517**

[63.528, -87.509, -14.482, 48.942, 123.246, 125.343, 176.487, -48.536, 134.705, 104.147]

**Tulos**

62.587

**Esimerkki 0.4518**

[34.291, -77.327, -25.038, 147.625, 104.605]

**Tulos**

36.831

**Esimerkki 0.4519**

[97.555, 155.313, 12.48]

**Tulos**

88.449

**Esimerkki 0,4520**

[218.105, -89.34, 143.734, 105.746, -80.485, 139.21, -23.243, 85.283]

**Tulos**

62.376

**Esimerkki 0,4521**

[95.711, 18.548, 28.083, 65.988, -43.727, 4.801, 31.114, 164.925]

**Tulos**

45.68

**Esimerkki 0,4522**

[141.258, 21.907, -75.163]

**Tulos**

29.334

**Esimerkki 0.4523**

[122.768, -60.03, -40.794]

**Tulos**

7.315

**Esimerkki 0,4524**

[73.331, 85.459, 59.798, -35.019]

**Tulos**

45.892

**Esimerkki 0,4525**

[137.571, 151.937, 187.469, 238.253]

**Tulos**

178.808

**Esimerkki 0,4526**

[9.786, 4.383, 175.284, 142.256, -95.57, -81.48, 116.872, 195.826]

**Tulos**

58.42

**Esimerkki 0.4527**

[62.622, 222.91, 52.302, -89.978, 179.485, 140.008]

**Tulos**

94.558

**Esimerkki 0,4528**

[40.092, 39.738]

**Tulos**

39.915

**Esimerkki 0.4529**

[223.927, -44.12, 0.828, -54.407]

**Tulos**

31.557

**Esimerkki 0,4530**

[33.483, 62.937, 158.591, -18.635, 129.531]

**Tulos**

73.181

**Esimerkki 0,4531**

[225.347, 163.556, 187.985, -13.244]

**Tulos**

140.911

**Esimerkki 0,4532**

[-27.518, -42.367]

**Tulos**

-34.942

**Esimerkki 0,4533**

[-93.617, 73.236, -10.334, 148.675, -17.128, 223.898, -51.981, 125.796, 31.407]

**Tulos**

47.772

**Esimerkki 0,4534**

[184.51, 79.649, 31.606, -65.279, 1.231]

**Tulos**

46.343

**Esimerkki 0,4535**

[51.158, 58.179]

**Tulos**

54.668

**Esimerkki 0.4536**

[-71.619, -40.619, 178.336]

**Tulos**

22.033

**Esimerkki 0.4537**

[38.459, -46.303, 155.479, 145.619, 154.178, 205.646, -99.859]

**Tulos**

79.031

**Esimerkki 0,4538**

[125.987, 140.164, 103.07, -78.923, -92.734, -96.888]

**Tulos**

16.779

**Esimerkki 0.4539**

[145.749, 137.312]

**Tulos**

141.531

**Esimerkki 0,4540**

[175.065, 122.093, -8.526, -76.127, 139.454]

**Tulos**

70.392

**Esimerkki 0,4541**

[199.465, 24.043, 148.421, -60.692, -11.204, 201.306]

**Tulos**

83.556

**Esimerkki 0,4542**

[-94.068, -52.758, 53.31, -5.178, -20.667, 100.51, 100.973, 168.318, 54.245, 210.951]

**Tulos**

51.564

**Esimerkki 0.4543**

[144.964, -8.324, 84.324]

**Tulos**

73.655

**Esimerkki 0.4544**

[165.559, 237.482, -54.605, -0.964, -79.319, -28.893]

**Tulos**

39.877

**Esimerkki 0,4545**

[232.334, 98.496, -33.81, -12.743, 147.9, 223.868, 21.898, 9.878, 234.927, 78.978]

**Tulos**

100.173

**Esimerkki 0.4546**

[-44.413, 149.034, 34.093, -92.48, 21.768]

**Tulos**

13.6

**Esimerkki 0.4547**

[205.188, 116.677, -18.826, 205.979, -45.328, -25.555]

**Tulos**

73.023

**Esimerkki 0.4548**

[168.988, -30.238]

**Tulos**

69.375

**Esimerkki 0,4549**

[154.164, 169.815, 165.561, 132.883, 7.345, -87.44, 61.366, 230.63, 131.698, 80.247]

**Tulos**

104.627

**Esimerkki 0,4550**

[-31.505, -25.291, -88.299, 23.561, 182.747, 144.445, 84.875]

**Tulos**

41.505

**Esimerkki 0.4551**

[165.718, 163.616, 144.924, 247.554, 106.989, 196.997, 109.315]

**Tulos**

162.159

**Esimerkki 0.4552**

[195.019, 144.893, 32.821, -21.855, 136.755]

**Tulos**

97.527

**Esimerkki 0.4553**

[57.948, 220.872, 208.084, 98.262, -96.056, -96.647, 55.855, 10.279, 224.097]

**Tulos**

75.855

**Esimerkki 0.4554**

[-88.357, 221.119, 238.999, 51.563, 36.917]

**Tulos**

92.048

**Esimerkki 0,4555**

[-83.979, -47.738, 246.23, 247.948, 110.267, -29.899, -93.927, -95.769]

**Tulos**

31.642

**Esimerkki 0.4556**

[127.708, 115.412]

**Tulos**

121.56

**Esimerkki 0.4557**

[89.281, 23.018, 168.604, -54.714, 84.437, 249.565, 8.148, -96.866, -65.843]

**Tulos**

45.07

**Esimerkki 0.4558**

[161.719, 190.202, -29.327, 106.791, 116.192, 138.531, 20.151, -20.543, 28.529, -21.501]

**Tulos**

69.074

**Esimerkki 0.4559**

[-93.444, 18.512, 41.838, 21.463, 45.583, -34.277, 196.404, 234.375, 41.432, -53.067]

**Tulos**

41.882

**Esimerkki 0,4560**

[221.561, 205.249, -5.164]

**Tulos**

140.549

**Esimerkki 0,4561**

[128.973, 36.8]

**Tulos**

82.887

**Esimerkki 0.4562**

[5.493, -96.484]

**Tulos**

-45.496

**Esimerkki 0,4563**

[197.424, 44.178, 136.316, 246.48, 98.472, -31.327, 41.411]

**Tulos**

104.708

**Esimerkki 0,4564**

[11.382, -86.442, -28.625]

**Tulos**

-34.562

**Esimerkki 0,4565**

[230.673, -25.014, 81.741, 83.984, 15.031, -2.618, 10.709]

**Tulos**

56.358

**Esimerkki 0,4566**

[9.749, 164.453]

**Tulos**

87.101

**Esimerkki 0,4567**

[19.314, 73.737, 132.099, 224.051, 53.872, 21.127, 182.113, -52.083, 185.871]

**Tulos**

93.345

**Esimerkki 0,4568**

[121.503, -39.763, -45.009, 63.121, 207.895, 28.118, 148.793, -36.393]

**Tulos**

56.033

**Esimerkki 0.4569**

[244.454, -60.861, 12.995, 143.486, 203.163, 215.813, 72.241, 102.645]

**Tulos**

116.742

**Esimerkki 0,4570**

[66.873, 218.261, 149.615, 131.278, -21.292, -15.403, 246.959]

**Tulos**

110.899

**Esimerkki 0,4571**

[-61.011, -68.772, -17.305]

**Tulos**

-49.029

**Esimerkki 0.4572**

[64.657, -99.347, -66.841, -80.124, -68.217, 122.268, 221.067]

**Tulos**

13.352

**Esimerkki 0,4573**

[-41.565, 1.048, -25.757]

**Tulos**

-22.091

**Esimerkki 0,4574**

[236.529, 167.706, 180.117, 175.296, -25.003, 5.091]

**Tulos**

123.289

**Esimerkki 0,4575**

[-79.748, 98.398, 55.667, 77.39, -20.719, 187.168, 142.334, 110.723]

**Tulos**

71.402

**Esimerkki 0,4576**

[-31.921, -39.036, 212.583, -44.259, 27.385, 95.851, 27.055, 153.172]

**Tulos**

50.104

**Esimerkki 0.4577**

[192.81, 216.608, 50.36, 232.671, 226.831, 232.654, 104.225]

**Tulos**

179.451

**Esimerkki 0,4578**

[68.635, 85.41, 234.806, 199.165, -83.691, 179.288, -81.042, 143.844, 20.881, -39.197]

**Tulos**

72.81

**Esimerkki 0.4579**

[-62.319, 151.254, 38.43, 247.945, 178.851, 214.918]

**Tulos**

128.18

**Esimerkki 0.4580**

[67.226, 174.919, 59.689, 48.932, 175.744, 76.096, -73.8, 227.097, 234.671, -94.816]

**Tulos**

89.576

**Esimerkki 0,4581**

[-43.113, 194.708, 21.635, 233.98, 232.055, -76.464, 48.366, 28.033, -54.157, 246.767]

**Tulos**

83.181

**Esimerkki 0.4582**

[248.527, 218.188, 233.73, -54.281, 55.644, -34.589]

**Tulos**

111.203

**Esimerkki 0,4583**

[186.969, 105.661, 184.165, 161.856, -96.067]

**Tulos**

108.517

**Esimerkki 0.4584**

[71.633, 199.431, 81.125, 113.778, 166.765, -88.713, 114.855]

**Tulos**

94.125

**Esimerkki 0,4585**

[50.384, 136.542, -5.113, 192.277, 69.184, 94.828, 198.389, 86.703]

**Tulos**

102.899

**Esimerkki 0.4586**

[-63.734, 218.034, 177.979, -5.542]

**Tulos**

81.684

**Esimerkki 0,4587**

[148.716, -3.353, 132.526, 172.114, 184.739, 114.606]

**Tulos**

124.891

**Esimerkki 0,4588**

[73.356, 32.076, -26.832, 10.388]

**Tulos**

22.247

**Esimerkki 0.4589**

[-8.987, 188.004, 159.267, 3.426, 90.685, 181.514, 214.063, 14.6]

**Tulos**

105.321

**Esimerkki 0,4590**

[230.085, 125.706, 191.442]

**Tulos**

182.411

**Esimerkki 0,4591**

[136.328, 90.98, 111.452]

**Tulos**

112.92

**Esimerkki 0.4592**

[212.618, -82.291, 210.651, 218.217, 0.112, -65.56, 216.532, 179.567, -1.07, 43.236]

**Tulos**

93.201

**Esimerkki 0,4593**

[-78.024, 43.878, 114.885]

**Tulos**

26.913

**Esimerkki 0,4594**

[20.713, -72.414, 57.131, -44.571, 129.399, 114.795, 15.526, 50.361]

**Tulos**

33.868

**Esimerkki 0,4595**

[219.266, 160.044, 164.151, 223.672, 97.381, -58.894, 109.643, -55.134, -54.016, 106.439]

**Tulos**

91.255

**Esimerkki 0,4596**

[33.698, -94.96, 86.493, 84.5]

**Tulos**

27.433

**Esimerkki 0,4597**

[119.324, 147.556, 78.047, 228.233, 243.763, -40.27, 138.747, 130.379]

**Tulos**

130.722

**Esimerkki 0.4598**

[59.225, 44.897, 97.858, -74.683, 228.261, -31.273, 62.844]

**Tulos**

55.304

**Esimerkki 0.4599**

[-82.488, -13.956, 47.24, 83.022, 8.093, 167.949, 129.967, -55.244, 0.962]

**Tulos**

31.727

**Esimerkki 0.4600**

[189.969, 141.874, -63.201, -22.618, 183.145, -36.312, 55.276, 125.444, -89.031]

**Tulos**

53.838

**Esimerkki 0.4601**

[213.817, 76.266, -73.455, -12.964, 189.174, 41.576, 156.04, 155.487]

**Tulos**

93.243

**Esimerkki 0.4602**

[101.981, 13.052, 129.934, 7.076, 68.112, 208.26]

**Tulos**

88.069

**Esimerkki 0.4603**

[9.392, -80.549]

**Tulos**

-35.579

**Esimerkki 0.4604**

[164.521, 75.123, -96.715]

**Tulos**

47.643

**Esimerkki 0.4605**

[151.852, 1.029, -20.728, -50.593, -94.863, 1.227, 38.469]

**Tulos**

3.77

**Esimerkki 0.4606**

[-58.055, 66.398, -32.928, -11.364, -89.587, 207.334, -75.209, 174.172]

**Tulos**

22.595

**Esimerkki 0.4607**

[51.048, 4.433, 18.504]

**Tulos**

24.662

**Esimerkki 0.4608**

[87.379, 130.994, 32.021, 135.156]

**Tulos**

96.388

**Esimerkki 0.4609**

[160.522, 136.797, -98.376, -11.525, 145.778]

**Tulos**

66.639

**Esimerkki 0.4610**

[249.263, -2.203, 181.958, 4.546]

**Tulos**

108.391

**Esimerkki 0.4611**

[144.791, 40.782, 56.067, -74.893, 206.791]

**Tulos**

74.708

**Esimerkki 0.4612**

[93.72, 13.366, -44.452, -29.011, 56.593, 5.272, -20.162, 160.282, 44.017]

**Tulos**

31.069

**Esimerkki 0.4613**

[140.17, 70.209, 204.563]

**Tulos**

138.314

**Esimerkki 0.4614**

[118.405, 152.607, 44.588, 232.202, 179.075, 88.648, 113.631, -45.762, 65.225]

**Tulos**

105.402

**Esimerkki 0.4615**

[-75.704, -31.361, 79.286, 154.808, -82.324, 216.429, 54.074, -70.835, 164.234, 111.267]

**Tulos**

51.987

**Esimerkki 0.4616**

[114.836, 99.729, -38.518, 132.184]

**Tulos**

77.058

**Esimerkki 0.4617**

[-34.779, 231.091, -11.726]

**Tulos**

61.529

**Esimerkki 0.4618**

[11.201, 61.764, 233.187, 180.546, 49.548, 150.766, -23.583, 226.0, 158.703, 33.624]

**Tulos**

108.176

**Esimerkki 0.4619**

[150.799, -43.601, 128.809, 146.402, -9.43, -41.837]

**Tulos**

55.19

**Esimerkki 0,4620**

[38.218, 209.805, 234.045, 4.987, 151.851, 43.495, -14.181]

**Tulos**

95.46

**Esimerkki 0,4621**

[86.433, 138.224, 193.806, 53.559, 40.299, 15.046, 212.04, 174.212, 172.282]

**Tulos**

120.656

**Esimerkki 0,4622**

[59.941, 108.996, 238.492, 180.719, 149.263, 236.611, 143.064, -95.824]

**Tulos**

127.658

**Esimerkki 0.4623**

[-39.897, -17.803]

**Tulos**

-28.85

**Esimerkki 0,4624**

[-91.375, 30.921, 74.541, 100.791]

**Tulos**

28.719

**Esimerkki 0,4625**

[171.77, -91.408]

**Tulos**

40.181

**Esimerkki 0,4626**

[184.913, 29.711, -84.626, 152.236, 220.841, 84.287, 10.798]

**Tulos**

85.451

**Esimerkki 0,4627**

[-76.519, -96.704, 45.765, -80.415, 43.483, 138.834, 8.465, 182.381, -22.006]

**Tulos**

15.92

**Esimerkki 0,4628**

[157.264, -70.245, -61.063, 5.07, 124.781, 203.599, 105.344, 174.924, 202.512, -82.565]

**Tulos**

75.962

**Esimerkki 0,4629**

[32.394, 106.563]

**Tulos**

69.478

**Esimerkki 0,4630**

[-0.223, -81.443, 108.234, 35.865, -90.363, 30.802, -66.19, 245.018, 3.767]

**Tulos**

20.607

**Esimerkki 0,4631**

[53.746, 103.485, 200.828, 96.316, 36.779, 187.846, 247.11]

**Tulos**

132.301

**Esimerkki 0.4632**

[219.752, 12.175, 155.547, -76.39, -26.954, -38.903, 67.008, -96.989, 79.572]

**Tulos**

32.758

**Esimerkki 0,4633**

[71.91, 41.513]

**Tulos**

56.712

**Esimerkki 0,4634**

[105.274, -66.492, 118.244, 114.355, -14.847, -3.061, 221.289, 42.404, -7.31]

**Tulos**

56.651

**Esimerkki 0,4635**

[18.957, -68.175, 114.05, -28.376, -83.193, 61.798, 41.101, 45.235]

**Tulos**

12.675

**Esimerkki 0.4636**

[-82.629, 25.561, 210.75]

**Tulos**

51.227

**Esimerkki 0.4637**

[39.88, 58.489, 225.343, 105.008, 210.581, 35.577]

**Tulos**

112.48

**Esimerkki 0,4638**

[-51.986, -35.463, 117.863, 85.376, 134.932, 22.087, -21.652, 229.811, -55.739, 215.347]

**Tulos**

64.058

**Esimerkki 0.4639**

[-49.197, 65.474, 84.269, 124.478, -94.567, -95.917, 226.369, -64.419]

**Tulos**

24.561

**Esimerkki 0,4640**

[8.14, 111.467, 200.595, 104.059, 198.289, 16.858, 214.546, 33.91, 133.532, 126.546]

**Tulos**

114.794

**Esimerkki 0,4641**

[-55.117, -47.102, -18.843, 241.612, 30.755, 63.517, 223.858, 227.481]

**Tulos**

83.27

**Esimerkki 0,4642**

[92.891, 64.464, 33.387, -24.305]

**Tulos**

41.609

**Esimerkki 0,4643**

[-99.685, 13.581, 173.381, -40.044, 110.553, 25.04]

**Tulos**

30.471

**Esimerkki 0.4644**

[-80.23, -64.886, 14.991, -75.9]

**Tulos**

-51.506

**Esimerkki 0,4645**

[63.97, 55.81, -82.725, 21.698, -31.542, 20.015, 12.167]

**Tulos**

8.485

**Esimerkki 0,4646**

[108.457, -43.179, 244.479, 31.069]

**Tulos**

85.206

**Esimerkki 0,4647**

[212.195, 152.682, 81.687, 54.129, 77.845, 220.624, 156.819, 188.596, 63.238]

**Tulos**

134.202

**Esimerkki 0.4648**

[220.205, -41.977, 36.28, 99.386, -53.347, 109.005, 244.313, 168.351, 148.904, -22.678]

**Tulos**

90.844

**Esimerkki 0,4649**

[53.064, -94.606]

**Tulos**

-20.771

**Esimerkki 0,4650**

[-24.186, 93.507, 32.113]

**Tulos**

33.811

**Esimerkki 0.4651**

[214.656, -82.183, 105.038, -34.9, -44.836, 143.236, 183.045, 160.483, 34.398]

**Tulos**

75.437

**Esimerkki 0.4652**

[18.777, 240.912, 100.334]

**Tulos**

120.008

**Esimerkki 0,4653**

[-53.613, 187.943, 232.251, 102.786, 86.448, 70.668, 70.52, 60.698]

**Tulos**

94.713

**Esimerkki 0.4654**

[244.263, 129.166]

**Tulos**

186.714

**Esimerkki 0,4655**

[-32.624, 225.642, 63.699, 188.552, 69.714, 245.564, 95.67, -5.252, -14.199, -88.529]

**Tulos**

74.824

**Esimerkki 0,4656**

[55.346, 58.176, -83.298, 157.825, -73.046, 241.84, 153.303, -48.846, 149.972]

**Tulos**

67.919

**Esimerkki 0.4657**

[28.892, 172.275, -34.932, 153.908, 73.699, 241.208, 191.266, 244.802, 226.589]

**Tulos**

144.19

**Esimerkki 0.4658**

[202.381, 241.483, -33.374, 168.759, -3.111]

**Tulos**

115.228

**Esimerkki 0.4659**

[-81.693, -7.595, -84.721, -54.301, -59.987, 89.947]

**Tulos**

-33.058

**Esimerkki 0,4660**

[65.84, -36.5, 22.876, 233.708, 201.367, -94.915, 230.566, 53.031, 65.583]

**Tulos**

82.395

**Esimerkki 0,4661**

[-6.424, -83.267, -90.261, -62.612, 204.9, 236.683, 49.591, 117.757]

**Tulos**

45.796

**Esimerkki 0,4662**

[220.502, 120.286, 84.602, 152.56, 67.934, -15.515, 75.274, 165.703, 61.737]

**Tulos**

103.676

**Esimerkki 0,4663**

[229.086, 31.951, 98.376, 220.605, 72.36, 67.547, 96.572, -44.463]

**Tulos**

96.504

**Esimerkki 0,4664**

[-61.056, 160.632, 141.971]

**Tulos**

80.516

**Esimerkki 0,4665**

[30.947, 240.077, 183.058, -90.888, -96.048, 95.125]

**Tulos**

60.378

**Esimerkki 0,4666**

[111.043, -44.288, 71.209, 86.59, -4.793, 14.894, 218.044]

**Tulos**

64.671

**Esimerkki 0,4667**

[195.584, -58.734, 66.928, 26.924, 245.906, 72.439, 103.563, 229.0, 43.957]

**Tulos**

102.841

**Esimerkki 0.4668**

[26.143, 91.447, 232.728, 166.034, 141.099, -19.491]

**Tulos**

106.327

**Esimerkki 0.4669**

[-29.406, 6.867, 186.276, 183.81]

**Tulos**

86.887

**Esimerkki 0,4670**

[246.375, 241.85, 0.1, 240.784]

**Tulos**

182.277

**Esimerkki 0,4671**

[-7.043, -29.088]

**Tulos**

-18.066

**Esimerkki 0.4672**

[-3.009, 219.509]

**Tulos**

108.25

**Esimerkki 0,4673**

[82.878, -71.323, 6.874, 189.524, -80.172, -36.084, 163.231, 57.496, 93.812]

**Tulos**

45.137

**Esimerkki 0.4674**

[239.951, -25.366, 148.466, -24.002, 34.006, -49.933]

**Tulos**

53.854

**Esimerkki 0,4675**

[126.658, -72.552, 194.637, 110.031, -58.383, 46.234, 145.996]

**Tulos**

70.374

**Esimerkki 0,4676**

[164.612, 30.276, 144.088, -1.588, -57.111, -24.247, -19.301, 152.272, 126.436, 130.879]

**Tulos**

64.632

**Esimerkki 0.4677**

[150.595, -73.067, 167.41, 98.227, 183.329, 8.67, -59.48, 173.502, 141.087]

**Tulos**

87.808

**Esimerkki 0,4678**

[-72.413, -92.68, -65.06, -7.577, -31.428, -34.342, 238.388, 69.535, 2.264]

**Tulos**

0.743

**Esimerkki 0,4679**

[50.44, 163.449, 181.067]

**Tulos**

131.652

**Esimerkki 0.4680**

[-62.835, 164.107, 109.39]

**Tulos**

70.221

**Esimerkki 0,4681**

[55.797, 237.758]

**Tulos**

146.778

**Esimerkki 0.4682**

[51.133, -97.09, -84.103, 153.976, 102.201, 236.147, 157.731, -3.464, 170.271, 112.312]

**Tulos**

79.911

**Esimerkki 0,4683**

[202.834, 103.563, 147.184, 237.796, 153.841, 134.637]

**Tulos**

163.309

**Esimerkki 0.4684**

[58.326, 95.189, 62.952]

**Tulos**

72.156

**Esimerkki 0,4685**

[-5.463, 75.352, 167.453]

**Tulos**

79.114

**Esimerkki 0.4686**

[217.342, 205.786, 21.046, 242.319, 117.69, 10.01, 6.337]

**Tulos**

117.219

**Esimerkki 0,4687**

[142.996, 219.102, -25.069, 89.381, 185.338, 153.662, 23.669]

**Tulos**

112.726

**Esimerkki 0,4688**

[126.177, 120.225, 231.498, 170.694, 34.361, 101.823, -21.468, 234.339]

**Tulos**

124.706

**Esimerkki 0.4689**

[190.628, 198.987, 188.785, -33.776, -84.606]

**Tulos**

92.004

**Esimerkki 0,4690**

[12.061, 106.618, -55.626, -28.064, 48.302, 125.589, 67.814]

**Tulos**

39.528

**Esimerkki 0,4691**

[30.448, 132.545, 166.304, 202.59]

**Tulos**

132.972

**Esimerkki 0.4692**

[-74.084, 8.978, 137.226, -9.442]

**Tulos**

15.669

**Esimerkki 0.4693**

[232.062, 23.897, -82.31, 185.046]

**Tulos**

89.674

**Esimerkki 0,4694**

[-68.757, 136.082, 230.812, 144.897, 20.1, 13.539]

**Tulos**

79.446

**Esimerkki 0,4695**

[185.956, 96.71, 59.807, 103.782, 130.001, 65.209, -39.276, 220.618, 7.291, 40.978]

**Tulos**

87.108

**Esimerkki 0,4696**

[-66.271, 56.586, -21.072, 136.915, 54.951, 112.054]

**Tulos**

45.527

**Esimerkki 0,4697**

[171.439, 0.981, 42.253, 239.995, 129.938, -67.125, -69.565, -53.374, -51.357]

**Tulos**

38.132

**Esimerkki 0.4698**

[216.087, 41.07, 213.683, 53.822, 31.214]

**Tulos**

111.175

**Esimerkki 0.4699**

[86.637, 50.043, 235.876, 53.937, 4.286, 149.072, 18.108, 76.563, -64.452]

**Tulos**

67.786

**Esimerkki 0,4700**

[111.788, -40.858, 177.223, 225.841, 190.427, 203.88, 224.93]

**Tulos**

156.176

**Esimerkki 0.4701**

[-59.651, 201.78, 93.984, -16.438, 8.159, 206.351, -71.563]

**Tulos**

51.803

**Esimerkki 0.4702**

[135.807, 205.755, 191.805]

**Tulos**

177.789

**Esimerkki 0.4703**

[-71.118, 160.927, 230.116, -26.655, -4.297, 64.272, 72.304, 41.517, 242.068]

**Tulos**

78.793

**Esimerkki 0.4704**

[-15.885, 135.262, 135.999, 179.96, 178.268, -65.339, 63.708]

**Tulos**

87.425

**Esimerkki 0.4705**

[87.094, 159.457, 159.05, 242.944, 17.48, 42.355]

**Tulos**

118.063

**Esimerkki 0.4706**

[-65.665, 179.403]

**Tulos**

56.869

**Esimerkki 0.4707**

[-47.821, 22.665, -99.968, 35.694, 57.319]

**Tulos**

-6.422

**Esimerkki 0.4708**

[32.761, -85.094, -14.165, 82.742, -62.362, -62.383, -77.496, 139.749, -21.633]

**Tulos**

-7.542

**Esimerkki 0.4709**

[70.407, 211.814, 66.093, 33.781, 32.718, 81.422]

**Tulos**

82.706

**Esimerkki 0,4710**

[68.753, 227.258, -67.293, 20.852, -48.419, 244.182, 75.629, 146.521, 23.542]

**Tulos**

76.781

**Esimerkki 0,4711**

[-19.756, 27.825, 23.624, 238.804, 122.208, 159.567, 197.245, 12.389, 24.138, 48.017]

**Tulos**

83.406

**Esimerkki 0.4712**

[-41.714, 218.588, 49.769, 142.519, 179.776, -99.226, 224.69, 191.642]

**Tulos**

108.256

**Esimerkki 0,4713**

[28.48, 65.599, 32.297, 189.983, -23.007]

**Tulos**

58.67

**Esimerkki 0,4714**

[29.261, -75.606]

**Tulos**

-23.172

**Esimerkki 0,4715**

[222.685, 138.844, -57.175]

**Tulos**

101.451

**Esimerkki 0,4716**

[63.769, 0.733, -71.174, 44.718, 121.724, -48.321, 204.745, -69.556]

**Tulos**

30.83

**Esimerkki 0,4717**

[172.017, -96.405, -85.336, 169.687, -90.702, 226.006]

**Tulos**

49.211

**Esimerkki 0,4718**

[-69.826, -59.771, 206.945, 70.077, 87.967, 194.501]

**Tulos**

71.649

**Esimerkki 0,4719**

[-72.377, 178.135, -14.775, -94.499, -64.974, 209.551]

**Tulos**

23.51

**Esimerkki 0,4720**

[121.284, -81.387, -64.335, 125.887, 214.34, -91.767]

**Tulos**

37.337

**Esimerkki 0,4721**

[-75.147, 188.529, -53.717]

**Tulos**

19.888

**Esimerkki 0,4722**

[126.548, 141.963, -79.366, -40.283, 30.655, -66.024, 182.809, 40.87, 152.327]

**Tulos**

54.389

**Esimerkki 0,4723**

[194.99, 39.561, -35.729, 115.798, 36.357]

**Tulos**

70.195

**Esimerkki 0,4724**

[237.861, 119.858, -8.107, -30.075, 180.524]

**Tulos**

100.012

**Esimerkki 0,4725**

[195.624, -43.952, 59.661, 215.245]

**Tulos**

106.644

**Esimerkki 0,4726**

[29.291, 47.611, 216.598, -66.688, 16.263, 93.893, -36.567]

**Tulos**

42.914

**Esimerkki 0,4727**

[211.052, 6.088, 216.055]

**Tulos**

144.398

**Esimerkki 0,4728**

[63.449, 194.592, 80.992]

**Tulos**

113.011

**Esimerkki 0,4729**

[171.709, -26.553, 174.856, 190.356, -85.339]

**Tulos**

85.006

**Esimerkki 0,4730**

[148.662, 196.41, -70.962, 167.723]

**Tulos**

110.458

**Esimerkki 0,4731**

[196.561, 5.364, 36.79, 40.919, 135.643, 219.097, -33.065, 211.959, 25.628]

**Tulos**

93.211

**Esimerkki 0,4732**

[223.346, -17.239, -26.413, -29.137, -61.666, 210.691, 97.973, -51.365, 99.191]

**Tulos**

49.487

**Esimerkki 0,4733**

[-40.509, 201.39]

**Tulos**

80.44

**Esimerkki 0,4734**

[52.056, -90.393, -58.882, 147.557, 243.623, 102.79, 5.508, 107.879, 107.174, 141.679]

**Tulos**

75.899

**Esimerkki 0,4735**

[-63.775, -92.198]

**Tulos**

-77.986

**Esimerkki 0,4736**

[36.34, -16.727, 140.541, 127.454, -94.11, -74.52, 96.179, -9.121, -65.54]

**Tulos**

15.611

**Esimerkki 0,4737**

[9.323, 61.048, 205.465, 120.938, 31.725]

**Tulos**

85.7

**Esimerkki 0,4738**

[-23.355, 88.318, 246.788, 95.4, 224.777, 204.856, 41.596]

**Tulos**

125.483

**Esimerkki 0,4739**

[-21.562, -64.985, 42.272, 147.175, 193.278, -64.47, 8.652, 54.443, -0.039]

**Tulos**

32.752

**Esimerkki 0,4740**

[5.809, 237.03, 58.665, 237.936, 35.419, 44.632, 3.692, 80.363]

**Tulos**

87.943

**Esimerkki 0,4741**

[170.32, -52.766, 63.611, 102.522, 38.669, 120.075]

**Tulos**

73.738

**Esimerkki 0,4742**

[162.262, -83.607, 114.398, 58.129]

**Tulos**

62.796

**Esimerkki 0,4743**

[204.455, 97.369, 66.08, -33.331, 234.506, 237.162, 132.311, 226.079, -12.993]

**Tulos**

127.96

**Esimerkki 0,4744**

[233.94, 51.078]

**Tulos**

142.509

**Esimerkki 0,4745**

[71.387, 199.68, 103.183, 245.63, -78.931, 172.86, 22.14]

**Tulos**

105.136

**Esimerkki 0,4746**

[157.631, 106.369, -25.319, 160.78, -87.597, 222.819, -60.99, 36.758, -3.695]

**Tulos**

56.306

**Esimerkki 0,4747**

[235.153, -94.289]

**Tulos**

70.432

**Esimerkki 0,4748**

[177.091, -67.579, 78.248, 237.508, 161.951]

**Tulos**

117.444

**Esimerkki 0,4749**

[28.797, 188.196, 148.309, 197.013, -45.842, 189.915, 249.708]

**Tulos**

136.585

**Esimerkki 0,4750**

[227.405, 36.776, -56.411, 95.299, 88.066, -9.451, 170.481]

**Tulos**

78.881

**Esimerkki 0,4751**

[196.139, 54.042, 76.027, 103.571]

**Tulos**

107.445

**Esimerkki 0,4752**

[-3.56, 159.692, 192.288, 188.355, 42.29, -70.831, 174.258, 28.121]

**Tulos**

88.827

**Esimerkki 0,4753**

[-38.447, 141.161, 244.787, 122.17, 18.835, 78.504, 30.742]

**Tulos**

85.393

**Esimerkki 0,4754**

[-67.913, -12.576, 195.616, 56.941, 175.886, -71.114, 17.551, 138.312, 45.143, 242.153]

**Tulos**

72.0

**Esimerkki 0,4755**

[76.701, 59.927, 193.513, 175.441, 237.714, 72.711, 228.315, -57.487]

**Tulos**

123.354

**Esimerkki 0,4756**

[-50.073, -18.97, 30.239, -25.441, 62.189, 59.358]

**Tulos**

9.55

**Esimerkki 0,4757**

[-43.086, 32.505, 185.19, -13.574, 163.145, 176.927, 22.859, -33.324, -48.236]

**Tulos**

49.156

**Esimerkki 0,4758**

[-92.736, 227.914, -10.51, 164.352, 214.068]

**Tulos**

100.618

**Esimerkki 0,4759**

[171.385, 157.819, -85.384, 132.398, 52.842, -5.369, 120.133, -95.03, -51.617, 113.647]

**Tulos**

51.082

**Esimerkki 0,4760**

[183.4, 55.915, -49.5, 74.181]

**Tulos**

65.999

**Esimerkki 0,4761**

[7.429, -17.94, 89.924, 22.548, 208.879, 73.573, -95.78, -82.677, 223.019]

**Tulos**

47.664

**Esimerkki 0,4762**

[53.417, 108.293, 81.325, 0.115, 69.127, 149.459, -4.859]

**Tulos**

65.268

**Esimerkki 0,4763**

[27.555, -5.84, 114.665, 4.729, 115.865, 51.116, -28.549, -57.693, -33.043, -83.201]

**Tulos**

10.56

**Esimerkki 0,4764**

[-58.728, -72.265, -14.881, -52.66, 154.535, 121.833, -39.542]

**Tulos**

5.47

**Esimerkki 0,4765**

[159.477, -33.494, 246.349]

**Tulos**

124.111

**Esimerkki 0,4766**

[164.73, -95.591, 134.663, 204.935, 38.575, -44.862, 110.546, 184.195, -28.878, -27.693]

**Tulos**

64.062

**Esimerkki 0,4767**

[230.413, 5.583, 155.666, -27.589]

**Tulos**

91.018

**Esimerkki 0,4768**

[215.031, 132.087, 119.756, 202.15, 226.568, -96.253, 207.965, 111.749, -20.658, -35.875]

**Tulos**

106.252

**Esimerkki 0.4769**

[-48.12, 192.63, 32.454, 132.703, -26.044, 140.006, -8.624, 38.438]

**Tulos**

56.68

**Esimerkki 0,4770**

[120.742, 116.157, -8.674, 4.318, 184.157, 101.279, 74.662]

**Tulos**

84.663

**Esimerkki 0,4771**

[-87.411, -18.524, 168.788, 112.685, 47.151, -70.348, 128.549, 9.845, -1.18, -53.661]

**Tulos**

23.589

**Esimerkki 0.4772**

[-10.328, 148.062, 29.116, -25.974, -72.832, 59.728, 4.018]

**Tulos**

18.827

**Esimerkki 0,4773**

[245.487, -82.172, -87.321, -35.714, -51.058, 29.802, -96.787]

**Tulos**

-11.109

**Esimerkki 0.4774**

[-89.478, 226.607, 155.612, 132.397, -72.36]

**Tulos**

70.556

**Esimerkki 0,4775**

[202.864, 18.484, -52.621, 18.206, -93.354, 194.237, -50.867]

**Tulos**

33.85

**Esimerkki 0,4776**

[45.793, -15.134]

**Tulos**

15.33

**Esimerkki 0.4777**

[241.421, 80.391, -29.016]

**Tulos**

97.599

**Esimerkki 0,4778**

[200.059, 99.343, -92.615, 112.717, 121.777, 163.537, 144.178, 193.189, 248.859, 171.337]

**Tulos**

136.238

**Esimerkki 0,4779**

[167.002, 136.7, 206.887, 151.381, 15.938]

**Tulos**

135.582

**Esimerkki 0,4780**

[5.707, -74.519, 199.797, 98.597, 12.049, 147.468, -3.52, 118.303]

**Tulos**

62.985

**Esimerkki 0,4781**

[157.098, -74.567, 232.772, 8.253, -37.439, -50.382, 87.844, -33.038, 124.28]

**Tulos**

46.091

**Esimerkki 0,4782**

[237.533, 33.023, 156.742, 110.282, 94.436, 166.329, 203.901, 183.623]

**Tulos**

148.234

**Esimerkki 0,4783**

[-73.803, -17.988]

**Tulos**

-45.896

**Esimerkki 0,4784**

[125.332, 80.443]

**Tulos**

102.887

**Esimerkki 0,4785**

[39.954, 239.9, -47.987]

**Tulos**

77.289

**Esimerkki 0,4786**

[-84.94, 142.21, 234.406, 22.533, -56.631, 209.944, -25.071, 152.08]

**Tulos**

74.316

**Esimerkki 0,4787**

[121.501, 100.542, 16.076, 43.065, 47.905, -10.556, 228.544, 3.983, 225.801, 34.481]

**Tulos**

81.134

**Esimerkki 0,4788**

[161.68, 205.351, 117.881, -21.979]

**Tulos**

115.733

**Esimerkki 0,4789**

[125.883, -66.251, -26.043, 146.204, 155.806]

**Tulos**

67.12

**Esimerkki 0,4790**

[160.855, -13.065, -94.447]

**Tulos**

17.781

**Esimerkki 0,4791**

[93.389, 53.887, 109.59]

**Tulos**

85.622

**Esimerkki 0,4792**

[140.279, -94.178, 192.832, -89.928, 34.417, -79.944, 111.457, -72.451]

**Tulos**

17.81

**Esimerkki 0,4793**

[144.428, 97.235, -41.454]

**Tulos**

66.736

**Esimerkki 0,4794**

[95.79, 198.471]

**Tulos**

147.13

**Esimerkki 0,4795**

[114.041, 53.494, 14.751, -0.392, -70.081, 116.8, 1.044, -50.731]

**Tulos**

22.366

**Esimerkki 0,4796**

[-60.074, 18.004, 31.926, 14.418, 59.849, 230.593, 138.066]

**Tulos**

61.826

**Esimerkki 0,4797**

[-51.199, -66.219]

**Tulos**

-58.709

**Esimerkki 0,4798**

[-3.315, 153.889, 208.841, 240.33, 222.577, 131.967, 33.853, -91.672, 40.029]

**Tulos**

104.055

**Esimerkki 0,4799**

[198.299, 128.301, 226.524, 186.726]

**Tulos**

184.962

**Esimerkki 0.4800**

[116.483, -59.476, 69.652]

**Tulos**

42.22

**Esimerkki 0.4801**

[90.21, 237.481, 235.732, 192.699]

**Tulos**

189.031

**Esimerkki 0.4802**

[-99.204, -30.412, -34.7, 143.961, -33.23, 240.344, 211.004]

**Tulos**

56.823

**Esimerkki 0.4803**

[157.22, -93.763, 245.661, -61.922, 99.217, -70.83, -98.362, 221.074]

**Tulos**

49.787

**Esimerkki 0.4804**

[21.531, 221.161, -31.194]

**Tulos**

70.499

**Esimerkki 0.4805**

[167.54, 105.914, -70.961, 209.763, 17.502, 126.98, 237.014]

**Tulos**

113.393

**Esimerkki 0.4806**

[-6.254, 227.214, 16.679, 223.03, 159.255]

**Tulos**

123.985

**Esimerkki 0.4807**

[5.688, 217.21]

**Tulos**

111.449

**Esimerkki 0.4808**

[-26.162, -54.388, 210.418, 243.645, -47.413, 127.634, -7.886]

**Tulos**

63.693

**Esimerkki 0.4809**

[31.549, 126.442, 190.664, 147.886, 110.752, 137.165, 6.738, -80.526, -86.857, 37.345]

**Tulos**

62.116

**Esimerkki 0.4810**

[124.865, 236.859, 7.403, 198.254, 87.091]

**Tulos**

130.894

**Esimerkki 0.4811**

[186.101, -86.947, 34.364, 216.489, 42.938, 178.119, -91.099, 139.8, 134.67, -24.047]

**Tulos**

73.039

**Esimerkki 0.4812**

[-19.26, 130.53, 225.367, 179.475, -63.39]

**Tulos**

90.544

**Esimerkki 0.4813**

[162.83, 184.838, -81.082, 114.027, 1.969, 133.714, -50.529, 119.637]

**Tulos**

73.176

**Esimerkki 0.4814**

[-48.551, -24.867, -28.454, 118.464, 113.012, 113.214, 241.775, 19.157, 198.242]

**Tulos**

77.999

**Esimerkki 0.4815**

[155.964, -16.379, 240.539, 90.653, 79.615, 169.355, 179.188, 242.35, 102.16]

**Tulos**

138.161

**Esimerkki 0.4816**

[-92.167, -67.984, -31.831, -21.057, 101.792, 114.116, 185.901, -25.874]

**Tulos**

20.362

**Esimerkki 0.4817**

[4.446, 70.393, 211.477]

**Tulos**

95.439

**Esimerkki 0.4818**

[50.355, 52.337, 136.573, 85.214, 84.509, 217.871, 39.437, -75.544]

**Tulos**

73.844

**Esimerkki 0.4819**

[28.204, 121.968]

**Tulos**

75.086

**Esimerkki 0.4820**

[135.601, 195.027, -90.321, 4.273, 149.687, 16.342, 31.166, 120.824, -13.427, -73.626]

**Tulos**

47.555

**Esimerkki 0,4821**

[111.39, 91.315, 18.803, -0.806, 157.023, 191.89, 32.274]

**Tulos**

85.984

**Esimerkki 0.4822**

[-19.488, 162.336, -47.616, 129.178, -46.088, 63.896, -77.495, 190.868]

**Tulos**

44.449

**Esimerkki 0.4823**

[226.83, -96.423, 91.121, 73.565, 148.922, 140.536, -60.267, -28.614, 233.65, -52.716]

**Tulos**

67.66

**Esimerkki 0.4824**

[15.873, 190.149, -2.924]

**Tulos**

67.699

**Esimerkki 0,4825**

[72.066, 224.552, 85.005, 249.093, 20.946, 76.286, 56.95, 193.66, -27.553]

**Tulos**

105.667

**Esimerkki 0,4826**

[46.64, 116.356, 31.237, -44.559, 114.819, 151.648, 67.54, -42.202, 80.551, -84.562]

**Tulos**

43.747

**Esimerkki 0.4827**

[189.754, -95.109, 228.258, 232.093, 110.498, 68.628, 152.154]

**Tulos**

126.611

**Esimerkki 0.4828**

[-50.208, 248.001, -92.993, -67.867, -25.771, 57.557]

**Tulos**

11.453

**Esimerkki 0.4829**

[247.77, 12.17, 124.226, 208.594, -52.038, -84.444, -67.881, 24.99, -47.418, 15.671]

**Tulos**

38.164

**Esimerkki 0,4830**

[-44.499, 175.462, 18.05, 149.685]

**Tulos**

74.674

**Esimerkki 0,4831**

[97.112, -21.863, 114.732, -13.867, 249.232]

**Tulos**

85.069

**Esimerkki 0.4832**

[161.716, 189.219]

**Tulos**

175.468

**Esimerkki 0,4833**

[20.849, -67.295, -22.337, 122.368, 173.519]

**Tulos**

45.421

**Esimerkki 0,4834**

[63.256, 62.034, 64.631, 162.145, 86.782, -23.542, -70.596]

**Tulos**

49.244

**Esimerkki 0,4835**

[-95.047, 68.752, 235.054, 2.235, 77.428, -25.235, -35.754, -96.524, 110.323]

**Tulos**

26.804

**Esimerkki 0.4836**

[90.803, 72.482, -65.905, 19.04, -58.205, -16.824]

**Tulos**

6.898

**Esimerkki 0.4837**

[-75.309, 13.595, -21.503]

**Tulos**

-27.739

**Esimerkki 0,4838**

[54.117, 52.533, -86.276]

**Tulos**

6.791

**Esimerkki 0.4839**

[190.775, 236.289, 153.003, 41.187, 169.006, -45.169, -75.314, 52.859, 9.214]

**Tulos**

81.317

**Esimerkki 0.4840**

[168.495, -45.259, 233.021, 210.029, -68.468, 222.516, 115.562, 182.961, 228.467, 54.633]

**Tulos**

130.196

**Esimerkki 0,4841**

[29.28, 238.933, 229.916, 95.678, -5.517, 148.697, 249.423, -67.735, 21.392]

**Tulos**

104.452

**Esimerkki 0.4842**

[65.072, -91.462, 41.572, 79.904, -13.47, -37.044, 71.614]

**Tulos**

16.598

**Esimerkki 0.4843**

[59.228, 222.992, 28.133, 222.894]

**Tulos**

133.312

**Esimerkki 0.4844**

[93.405, -31.061]

**Tulos**

31.172

**Esimerkki 0,4845**

[179.999, 155.835, 137.7, -29.644, 249.965, 151.69, 211.584]

**Tulos**

151.018

**Esimerkki 0.4846**

[92.834, -26.072, -36.119, 97.442, 230.349, 224.718, 201.615, 159.667, 140.457, 47.4]

**Tulos**

113.229

**Esimerkki 0.4847**

[9.477, 80.386, 229.39, 221.455, 172.89, 79.555, -7.837, 175.651, 147.418, 100.648]

**Tulos**

120.903

**Esimerkki 0.4848**

[-27.722, -35.758, 83.995, -7.374, 60.825, 165.182]

**Tulos**

39.858

**Esimerkki 0.4849**

[-34.586, -48.018, -1.614, 177.925, -46.168, 130.596, -5.151, 139.407, -6.979]

**Tulos**

33.935

**Esimerkki 0,4850**

[21.325, 193.326, 140.579, 157.214, 129.438, 205.186, -8.892, 154.529, 241.713]

**Tulos**

137.158

**Esimerkki 0,4851**

[9.828, 248.054, 20.871, 99.749, 52.797, -86.856, 65.438, 53.627]

**Tulos**

57.939

**Esimerkki 0.4852**

[-75.177, 102.096, 105.293, 210.327, 226.299, 66.171, 151.228, -88.673]

**Tulos**

87.196

**Esimerkki 0.4853**

[125.861, 9.612, 91.682, 5.382, 111.319, -80.96, -22.551, 82.734, 236.247, 94.408]

**Tulos**

65.373

**Esimerkki 0.4854**

[225.697, 75.029]

**Tulos**

150.363

**Esimerkki 0,4855**

[-57.661, 110.804]

**Tulos**

26.572

**Esimerkki 0,4856**

[88.256, 46.299, -85.462, -32.024, 176.318, -24.201, 200.691, 93.834]

**Tulos**

57.964

**Esimerkki 0.4857**

[115.643, 84.855, 71.644, 101.947, 133.186, 126.685, -23.845, -93.899, 211.429]

**Tulos**

80.849

**Esimerkki 0.4858**

[-59.938, 12.276]

**Tulos**

-23.831

**Esimerkki 0.4859**

[5.532, 166.986, -79.512, 246.089]

**Tulos**

84.774

**Esimerkki 0.4860**

[232.534, -88.976, 128.098, 107.623, 146.506, 99.757, 103.4, -50.318, 11.526, 236.434]

**Tulos**

92.658

**Esimerkki 0,4861**

[-62.6, 122.53, 63.822]

**Tulos**

41.251

**Esimerkki 0.4862**

[167.37, -16.845]

**Tulos**

75.262

**Esimerkki 0,4863**

[235.663, 221.742, 156.739, -86.57, 146.941, 40.07, -8.314]

**Tulos**

100.896

**Esimerkki 0.4864**

[202.708, 225.584, 62.673, 201.283, 65.287, 102.764, 213.812, 241.877, -43.051]

**Tulos**

141.437

**Esimerkki 0,4865**

[192.465, -79.756, -94.571, 169.407, 119.078, 149.485, 80.144, 192.911]

**Tulos**

91.145

**Esimerkki 0,4866**

[-91.531, 115.044, -34.155, 178.455, 0.682, 90.689, -60.965, 15.051, 224.379]

**Tulos**

48.628

**Esimerkki 0,4867**

[6.118, -43.196]

**Tulos**

-18.539

**Esimerkki 0.4868**

[247.481, 135.26, 53.385, 172.394]

**Tulos**

152.13

**Esimerkki 0.4869**

[222.988, 35.571]

**Tulos**

129.279

**Esimerkki 0,4870**

[73.637, 249.719, 215.144, 221.034, -6.774, 15.96, -72.507, -15.652]

**Tulos**

85.07

**Esimerkki 0,4871**

[-13.536, 209.128, 19.288, 242.424, 115.067]

**Tulos**

114.474

**Esimerkki 0.4872**

[86.124, -84.963]

**Tulos**

0.581

**Esimerkki 0,4873**

[245.271, 40.965, 133.913, 212.104]

**Tulos**

158.063

**Esimerkki 0.4874**

[-35.54, 67.735, 184.858, 9.062, 120.196, 39.639, -52.051]

**Tulos**

47.7

**Esimerkki 0,4875**

[188.835, 4.769, 77.899, 173.178, -98.747]

**Tulos**

69.187

**Esimerkki 0,4876**

[65.789, -62.352, 30.189, 198.042, 63.008, -63.568, -94.606, 53.332]

**Tulos**

23.729

**Esimerkki 0.4877**

[141.854, -17.197, -94.653, 64.323, 206.034, 183.205]

**Tulos**

80.594

**Esimerkki 0.4878**

[220.241, 206.065, 140.526, 75.985]

**Tulos**

160.704

**Esimerkki 0.4879**

[227.27, 189.522, 101.897, 38.192, 119.101, 211.617, 111.434, 32.085, -71.2]

**Tulos**

106.658

**Esimerkki 0.4880**

[-35.143, -11.091, -16.798, 9.943, -57.364, 14.753, 6.114, 138.351]

**Tulos**

6.096

**Esimerkki 0,4881**

[187.583, 187.194, 223.406, 180.269, -57.343, -89.516, 109.096, 167.103, 21.659]

**Tulos**

103.272

**Esimerkki 0.4882**

[67.487, 242.093, 105.788]

**Tulos**

138.456

**Esimerkki 0.4883**

[207.297, 65.272, -4.548, 159.113, 193.955, 111.483, 19.355, -17.757, -16.517]

**Tulos**

79.739

**Esimerkki 0.4884**

[127.592, 0.243, 116.984, 205.689, 53.382, 214.986, -82.852, -12.646, 82.891, -55.781]

**Tulos**

65.049

**Esimerkki 0,4885**

[19.431, 88.063, -40.795, 215.353]

**Tulos**

70.513

**Esimerkki 0,4886**

[61.493, 50.388, 208.307, 138.437, 21.118, -37.414]

**Tulos**

73.722

**Esimerkki 0,4887**

[233.848, -58.713, 126.623, 27.615, 62.365, 200.239, 13.38]

**Tulos**

86.48

**Esimerkki 0.4888**

[84.867, -27.807]

**Tulos**

28.53

**Esimerkki 0.4889**

[229.113, 95.164, 179.669]

**Tulos**

167.982

**Esimerkki 0,4890**

[236.959, 159.123, 17.257, 241.561, 119.782, -3.56, -30.957]

**Tulos**

105.738

**Esimerkki 0.4891**

[-91.867, 69.571]

**Tulos**

-11.148

**Esimerkki 0.4892**

[69.859, 97.668]

**Tulos**

83.764

**Esimerkki 0.4893**

[24.178, -12.985, -38.013, 103.784, 74.878, -82.984, 34.121, 26.287]

**Tulos**

16.158

**Esimerkki 0.4894**

[43.952, 91.096, 14.401, 225.755]

**Tulos**

93.801

**Esimerkki 0,4895**

[-26.42, 131.449, 160.81, 216.055, 73.889, -21.603, -22.399, 105.801, 183.704]

**Tulos**

89.032

**Esimerkki 0.4896**

[176.555, -42.921, 234.9, -77.061, 195.761, 39.45, 190.59, 176.731, 172.393]

**Tulos**

118.489

**Esimerkki 0,4897**

[195.601, 160.736, 226.199, 210.345, -39.117, 174.994, 65.596, 41.928, 141.095, 197.382]

**Tulos**

137.476

**Esimerkki 0.4898**

[76.889, 179.836, 105.364]

**Tulos**

120.696

**Esimerkki 0.4899**

[94.577, -53.428, -32.952, -47.368, -62.93, 186.486, -67.365, -31.864, 33.448, 247.086]

**Tulos**

26.569

**Esimerkki 0.4900**

[239.019, 0.69, -82.22, -34.749]

**Tulos**

30.685

**Esimerkki 0.4901**

[-51.97, 221.622]

**Tulos**

84.826

**Esimerkki 0.4902**

[-85.202, 41.205, 242.359, -84.8, 199.285, 56.254, 67.95, 218.03]

**Tulos**

81.885

**Esimerkki 0.4903**

[-49.193, 85.774, 239.221]

**Tulos**

91.934

**Esimerkki 0.4904**

[211.23, 157.572, -97.072, 21.425, 195.219, -69.739, -17.559, 127.232, -61.403, 121.073]

**Tulos**

58.798

**Esimerkki 0,4905**

[-33.545, 38.711, -25.667, -17.684, 163.449, -94.125, 173.501, 6.966, 227.719, 135.107]

**Tulos**

57.443

**Esimerkki 0.4906**

[68.479, 115.345]

**Tulos**

91.912

**Esimerkki 0.4907**

[-15.842, 203.934, 1.146, 230.272, 145.962, 67.736, 119.41, 205.691, 148.317]

**Tulos**

122.958

**Esimerkki 0.4908**

[204.355, 180.267, 75.633, -87.94, 157.391, 63.044, 205.133]

**Tulos**

113.983

**Esimerkki 0.4909**

[132.423, 112.113, -18.451, 173.402, -22.149, 152.638, -2.156, 99.609]

**Tulos**

78.429

**Esimerkki 0.4910**

[218.58, -87.215, 179.092, 180.514, -40.397]

**Tulos**

90.115

**Esimerkki 0,4911**

[244.1, -84.018, 7.772, 69.273, 99.397, 158.691, -0.315]

**Tulos**

70.7

**Esimerkki 0.4912**

[37.853, 78.283, 143.128, 82.561, 181.661, -89.154, 50.037]

**Tulos**

69.196

**Esimerkki 0.4913**

[14.166, 216.734, -23.073, 209.811, 203.336, 91.659, 142.602, 1.151, -39.869, -54.838]

**Tulos**

76.168

**Esimerkki 0.4914**

[174.943, -19.337, 67.246, 202.457, 191.304, 67.278, 61.986]

**Tulos**

106.554

**Esimerkki 0,4915**

[142.803, 128.511, 6.021, 7.531, 140.545]

**Tulos**

85.082

**Esimerkki 0.4916**

[-7.057, 122.729, -78.932, 52.502, 191.819, 80.994, 29.505, -10.501]

**Tulos**

47.632

**Esimerkki 0.4917**

[-45.479, 80.214, 114.961, 199.196, -67.547, 85.657, -40.835, 215.63]

**Tulos**

67.725

**Esimerkki 0.4918**

[-81.578, 94.601, 150.275, 111.758, 14.779, -87.854, 72.227, 142.99, 200.847]

**Tulos**

68.672

**Esimerkki 0.4919**

[29.77, 143.078, 214.642]

**Tulos**

129.163

**Esimerkki 0,4920**

[-85.469, -13.4, 204.437, 105.267, -65.813, 21.201, -13.486]

**Tulos**

21.82

**Esimerkki 0,4921**

[-22.937, 71.629, 248.76, 166.523, 130.644, 15.175, 117.075, 119.032]

**Tulos**

105.738

**Esimerkki 0,4922**

[97.043, 224.423, -6.879, 167.24, -90.61, 23.426, -27.015, 170.109]

**Tulos**

69.717

**Esimerkki 0.4923**

[54.252, 6.777, 90.081, 142.803]

**Tulos**

73.478

**Esimerkki 0,4924**

[170.089, 199.139, 125.94, 117.265, 211.002, -87.162, 187.027, 125.863, 122.827]

**Tulos**

130.221

**Esimerkki 0,4925**

[91.043, -73.625, 209.433]

**Tulos**

75.617

**Esimerkki 0,4926**

[132.285, 136.956]

**Tulos**

134.62

**Esimerkki 0,4927**

[170.193, 3.616, 215.99, 173.329, 171.613, 193.589, 89.883, -69.397]

**Tulos**

118.602

**Esimerkki 0,4928**

[192.278, 136.832, -19.412, 103.997, 244.988, 243.271, 129.71]

**Tulos**

147.381

**Esimerkki 0.4929**

[-30.046, 227.991, -76.496, 206.659]

**Tulos**

82.027

**Esimerkki 0,4930**

[194.285, 56.469, 64.53, 100.467]

**Tulos**

103.938

**Esimerkki 0,4931**

[151.463, 163.651, -88.224, 87.7, 218.205, 88.816, 197.676, -18.096, -21.814, 241.262]

**Tulos**

102.064

**Esimerkki 0,4932**

[165.626, -5.18, 94.191, -63.624, 127.804, -11.39]

**Tulos**

51.238

**Esimerkki 0,4933**

[113.238, 247.072, -31.448, -33.563, 74.519, 67.841]

**Tulos**

72.943

**Esimerkki 0,4934**

[131.655, 184.498, 98.283]

**Tulos**

138.145

**Esimerkki 0,4935**

[-9.906, -62.574]

**Tulos**

-36.24

**Esimerkki 0,4936**

[54.32, -77.717, 25.865, -28.992, -78.908, 135.146, 135.358, 156.696, -92.81, -98.745]

**Tulos**

13.021

**Esimerkki 0,4937**

[30.99, 197.577, 211.905, 130.898, 10.106, -15.097, 139.3, 71.536, 114.755]

**Tulos**

99.108

**Esimerkki 0,4938**

[131.308, 156.502]

**Tulos**

143.905

**Esimerkki 0,4939**

[-23.445, 144.846, 74.158, -40.879, -20.022, -53.147, 208.229]

**Tulos**

41.391

**Esimerkki 0,4940**

[136.986, -72.697, -9.581, -44.692, 79.9, 68.205, 103.108, 18.406, 89.891, -31.264]

**Tulos**

33.826

**Esimerkki 0,4941**

[-10.846, 9.062, 176.455, -35.629]

**Tulos**

34.761

**Esimerkki 0,4942**

[81.412, 169.404, 122.98, -21.127]

**Tulos**

88.167

**Esimerkki 0,4943**

[73.596, 210.962, 220.847, -88.376, 6.887, 57.473, 141.324]

**Tulos**

88.959

**Esimerkki 0,4944**

[116.459, -29.093, 209.834, -57.027, 81.94, -6.547, -26.141]

**Tulos**

41.346

**Esimerkki 0,4945**

[61.931, -94.172, -65.103, -27.81, 162.59, 113.736, 120.562, 226.794, 75.363, 222.784]

**Tulos**

79.668

**Esimerkki 0,4946**

[32.962, 40.674, -70.729, 174.148, 76.203, 193.206, -61.932, -2.655, -75.513, 118.474]

**Tulos**

42.484

**Esimerkki 0,4947**

[-14.115, -70.657, 57.077, 199.508, 134.717]

**Tulos**

61.306

**Esimerkki 0,4948**

[-28.586, 155.564, -68.241, -51.503, 77.392, 201.724]

**Tulos**

47.725

**Esimerkki 0,4949**

[74.423, 9.21, 186.401, 131.036, -59.984]

**Tulos**

68.217

**Esimerkki 0,4950**

[242.481, -6.824, -8.251, 146.425, 140.969, 6.919, -83.599, -59.12, 124.042]

**Tulos**

55.894

**Esimerkki 0,4951**

[142.812, 170.12, 129.544, -64.716, 89.113]

**Tulos**

93.375

**Esimerkki 0,4952**

[-0.52, 249.164, 11.78, 81.615]

**Tulos**

85.51

**Esimerkki 0,4953**

[196.862, 110.822, 29.356, -60.967]

**Tulos**

69.018

**Esimerkki 0,4954**

[191.615, 242.549, 11.029, 169.687, 192.429]

**Tulos**

161.462

**Esimerkki 0,4955**

[-77.098, 33.981, 159.723, -56.151, 9.713, -89.709, 12.851]

**Tulos**

-0.956

**Esimerkki 0,4956**

[51.372, 141.276, 8.131, 168.539, 151.323]

**Tulos**

104.128

**Esimerkki 0,4957**

[147.263, 61.676, 51.862]

**Tulos**

86.934

**Esimerkki 0,4958**

[97.163, -74.571, -12.529]

**Tulos**

3.354

**Esimerkki 0,4959**

[44.915, 240.442, 223.923, 217.922]

**Tulos**

181.8

**Esimerkki 0,4960**

[92.543, 182.158, 92.028, 84.905, 28.435, 215.761, 143.144, 27.47]

**Tulos**

108.306

**Esimerkki 0,4961**

[78.564, 241.341]

**Tulos**

159.952

**Esimerkki 0,4962**

[146.348, 26.388, -44.791]

**Tulos**

42.648

**Esimerkki 0,4963**

[-95.339, 84.044, 232.016, -53.483, 244.512]

**Tulos**

82.35

**Esimerkki 0,4964**

[79.537, 201.642, 234.113, 155.633, 150.038, 151.082, 46.438, 196.947]

**Tulos**

151.929

**Esimerkki 0,4965**

[230.233, 245.79, 230.167, 170.192, 150.066, 178.333, 13.521, 51.188]

**Tulos**

158.686

**Esimerkki 0,4966**

[188.132, 125.24, 225.85, 36.47, -35.697, -56.987, 4.451, -11.939]

**Tulos**

59.44

**Esimerkki 0,4967**

[166.42, 11.757, 105.453, 25.541, 129.104, 218.808, -97.374]

**Tulos**

79.958

**Esimerkki 0,4968**

[118.554, 176.562, 33.122, 128.62, -40.387, 130.134, -95.38, 88.282, 179.758]

**Tulos**

79.918

**Esimerkki 0,4969**

[20.275, -64.206, 247.702, 156.715, 209.023]

**Tulos**

113.902

**Esimerkki 0.4970**

[121.385, -51.828, -25.373, 204.558, -52.924, 200.816]

**Tulos**

66.106

**Esimerkki 0,4971**

[69.898, 97.076, -65.896]

**Tulos**

33.693

**Esimerkki 0.4972**

[242.823, -39.827, 72.63, 185.81, 163.766]

**Tulos**

125.04

**Esimerkki 0,4973**

[85.937, -33.887, 63.413, 232.367, 142.892, -75.458, -45.413]

**Tulos**

52.836

**Esimerkki 0,4974**

[44.134, 246.387, 249.332, 3.801]

**Tulos**

135.914

**Esimerkki 0,4975**

[-70.155, 115.467, 175.376, 98.532, 15.688, -34.377, -38.563]

**Tulos**

37.424

**Esimerkki 0,4976**

[3.121, 38.65, 215.525, -51.77, 37.514]

**Tulos**

48.608

**Esimerkki 0,4977**

[32.79, 1.231, 79.621, 204.207, 47.999, 115.168]

**Tulos**

80.169

**Esimerkki 0.4978**

[167.685, 105.867, -32.412, 236.587, 117.253]

**Tulos**

118.996

**Esimerkki 0,4979**

[-8.383, 119.676, 123.133, -58.683, 20.378, 164.54]

**Tulos**

60.11

**Esimerkki 0,4980**

[2.81, 52.99, 55.279, 75.682, 73.835, 148.077, -54.162, 112.112]

**Tulos**

58.328

**Esimerkki 0,4981**

[37.685, 173.291]

**Tulos**

105.488

**Esimerkki 0.4982**

[182.327, 207.078, -87.123, 141.52, -24.424, 8.003, 153.564, 235.454, 130.112]

**Tulos**

105.168

**Esimerkki 0,4983**

[126.453, 169.516, 109.837, 208.695, 113.906, 56.894, 171.345, 126.81]

**Tulos**

135.432

**Esimerkki 0,4984**

[203.759, 212.837, -91.708, 52.778, 114.595, 52.16, 240.988, 129.009, 135.674]

**Tulos**

116.677

**Esimerkki 0,4985**

[207.041, -65.569, 55.112, 47.798, 25.728, 60.579, 12.774, -88.361, 103.728]

**Tulos**

39.87

**Esimerkki 0,4986**

[110.249, 157.344, 198.65, 107.833, -2.52, 134.604, 57.996, -77.682, 214.709]

**Tulos**

100.131

**Esimerkki 0,4987**

[70.719, 126.44, 203.395, 115.258, 184.749, 77.713]

**Tulos**

129.712

**Esimerkki 0.4988**

[40.781, 76.611, 89.978, -90.541]

**Tulos**

29.207

**Esimerkki 0,4989**

[181.372, 16.41, 73.551, -28.452]

**Tulos**

60.72

**Esimerkki 0.4990**

[-50.219, 16.731]

**Tulos**

-16.744

**Esimerkki 0.4991**

[-63.543, -71.569, 39.99, 204.104, 208.653, 163.789]

**Tulos**

80.237

**Esimerkki 0.4992**

[-95.368, -73.751, 46.965, 121.293, 189.245, 78.186, 18.098, 221.778, 46.933]

**Tulos**

61.487

**Esimerkki 0.4993**

[121.361, 227.226, 80.967, 8.425, 24.238, 137.374]

**Tulos**

99.932

**Esimerkki 0.4994**

[235.623, 139.112, -64.615, 51.394, 139.92, 114.222, -38.141, -42.465]

**Tulos**

66.881

**Esimerkki 0,4995**

[10.816, 102.092]

**Tulos**

56.454

**Esimerkki 0.4996**

[32.454, 93.399, -22.196, 220.582]

**Tulos**

81.06

**Esimerkki 0.4997**

[57.641, -39.332, 37.32, 225.518, -90.353, 43.332]

**Tulos**

39.021

**Esimerkki 0.4998**

[-73.614, 202.002, 209.806, -68.131, 96.3]

**Tulos**

73.273

**Esimerkki 0,4999**

[157.766, -45.853, -63.914, 169.231, -77.586, 62.681, 112.905, -72.059, 122.375, 42.288]

**Tulos**

40.783

**Tehtävä numero 1**

Tässä tehtävässä sinulle annetaan yksi kappale tutkimusartikkelista, ja tehtäväsi on luoda tutkimusartikkelille sopiva otsikko annetun artikkelin pohjalta. Alle 100 sanaa on hyvä otsikon pituus.

**Esimerkki 1.0**

Keuhkojen alveolaariproteinoosille (PAP) on ominaista surfaktantin kaltaisen aineen kerääntyminen alveolitiloihin ja hypokseminen hengitysvajaus. Geneettinen PAP (GPAP) johtuu mutaatioista geeneissä, jotka koodaavat surfaktanttiproteiineja tai surfaktantin fosfolipidikuljettajaa alveolien tyypin II epiteelisoluissa. GPAP:n aiheuttavat myös mutaatiot geeneissä, joiden tuotteet osallistuvat surfaktantin kataboliaan alveolaarimakrofageissa (AM). Suoritimme koko eksomi-sekvenssianalyysin perheessä, jossa esiintyi lapsuusiän PAP:tä, johon liittyi hypogammaglobulinemia ilman syyllisiä mutaatioita PAP:hen liittyvissä geeneissä: SFTPB, SFTPC, ABCA3, CSF2RA, CSF2RB ja GATA2. Tunnistimme heterotsygoottisen missense-muutoksen OAS1:ssä, joka koodaa 2, 0 5 0 -oligoadenylaattisyntetaasi 1:tä (OAS1), kolmessa sairastuneessa sisaruksessa, mutta ei sairastumattomissa perheenjäsenissä. Seuraavan sukupolven sekvensoinnilla tehty syväsekvenssianalyysi osoitti, että tämä variantti on 3,81-prosenttisesti mosaiikillinen heidän äitinsä perifeerisen veren leukosyyttien DNA:ssa, mikä viittaa siihen, että tässä perheessä havaittu PAP voisi periytyä äidiltä autosomaalisesti dominoivana ominaisuutena. Tunnistimme kaksi muuta de novo heterotsygoottista OAS1:n missense-muunnosta kahdella sukuun kuulumattomalla simplex-henkilöllä, joilla myös ilmeni lapsuusiän PAP:tä ja hypogammaglobulinemiaa. Näiden kahden simplex-henkilön PAP parani hematopoieettisen kantasolusiirron jälkeen, mikä osoittaa, että OAS1:n toimintahäiriö liittyy AM:n vioista johtuvaan heikentyneeseen surfaktanttikataboliaan.

**Tulos**

Heterotsygoottiset mutaatiot OAS1:ssä aiheuttavat lapsuusiän keuhkojen alveolaariproteinoosia, johon liittyy hypogammaglobulinemiaa.

**Esimerkki 1.1**

Newcastlen tauti (ND) on tarttuva tauti, joka vaikuttaa useimpiin lintulajeihin. Sen aiheuttajalla, Newcastlen tautiviruksella (NDV), on myös huomattavaa onkolyyttistä aktiivisuutta nisäkkäiden syöpää vastaan. NDV:n patogeneesin parempi ymmärtäminen auttaa meitä suunnittelemaan tehokkaita rokotteita ja uusia syöpälääkitysstrategioita. GW3965, laajalti käytetty maksan X-reseptorin (LXR) synteettinen ligandi, indusoi LXR:n ja sen jälkeisten geenien, kuten ATP-sitovan kasettikuljettajan A1 (ABCA1), ilmentymistä. ABCA1 säätelee solujen kolesterolihomeostaasia. Tässä tutkimuksessa havaittiin, että GW3965 esti NDV-infektion DF-1-soluissa. Se esti myös NF-jB:n aktivoitumista ja vähensi infektion aiheuttamaa proinflammatoristen sytokiinien ylössäätelyä. Jatkotutkimukset osoittivat, että GW3965:llä oli estäviä vaikutuksia viruksen sisäänpääsyyn ja replikaatioon. NDV-infektio lisäsi useiden lipogeenisten geenien mRNA-tasoja mutta vähensi ABCA1:n mRNA-tasoa. ABCA1:n yliekspressio esti NDV-infektion ja vähensi DF-1-solujen kolesterolipitoisuutta, mutta kun kolesterolia täydennettiin, NDV-infektio palautui. GW3965-hoito esti kolesterolin kertymisen infektoituneiden solujen perinukleaariselle alueelle. Yhteenvetona voidaan todeta, että tutkimuksemme viittaavat siihen, että GW3965 estää NDV-infektiota todennäköisesti vaikuttamalla kolesterolin homeostaasiin.

**Tulos**

LXR-ligandi GW3965 estää Newcastlen taudin virusinfektiota vaikuttamalla kolesterolin homeostaasiin.

**Esimerkki 1.2**

Tavoitteet: Tässä tutkimuksessa pyrittiin tarkastelemaan tapaturma- ja päivystysosastolla (AED) tapahtuneiden kaatumisten suuntauksia ja ominaisuuksia vammatyypin mukaan sekä niihin liittyvän keskimääräisen oleskelun pituuden (LOS) suuntausta lasten ja nuorten keskuudessa Hongkongissa. Suunnittelu: Tutkimusmenetelmänä käytettiin retrospektiivistä lähestymistapaa. Tutkimusympäristö: AED, johon osallistuivat kaikki paikalliset julkiset päivystysosastot vuosina 2001-2012. Osallistujat: Analyysiin otettiin mukaan 63 557 0-19-vuotiasta henkilöä, joilla oli tietoja kaatumisvammoista. Ensisijaiset tulosmittarit: Laskettiin ja raportoitiin kaatumisvammojen määrä ja määrä. Poissonin ja negatiivisen binomiaalisen regressiomallin avulla tutkittiin vammojen esiintyvyyden suuntauksia eri kehon alueilla. Tulokset: AED:n kaatumisesta johtuvien vammojen määrä lisääntyi merkittävästi, ja vuotuinen prosentuaalinen muutos oli 4,45 (95 % CI 3,43-5,47 %, p<0,0001). Mieshenkilöiden käyntimäärä oli jatkuvasti suurempi kuin naishenkilöiden. Murtumavammojen vakioitu osuus kasvoi 1,31 % (95 % CI 0,56-2,05 %, p<0,0001) ja muiden kuin murtumavammojen osuus 9,23 % (95 % CI 7,07-11,43 %, p<0,0001) vuosittain. Yläraaja oli yleisin murtumakohta. Siihen kuuluivat kyynärvarsi/kyynärpää, olkapää/yläkäsivarsi ja ranne/käsi alenevassa järjestyksessä. Päinvastoin, pää oli yleisin murtumaton paikka, ja sen jälkeen tuli kyynärvarsi/kyynärpää. Kaatumisiin liittyvien hoitojaksojen määrä on kasvanut ja on edelleen korkea. Muiden kuin murtumavammojen määrä lisääntyi merkittävästi. Murtumia todettiin useimmiten lapsen yläraajassa, kun taas yleisin muu kuin murtumakohta oli pää. Vaikuttaa siltä, että Hongkongin lasten ja nuorten osalta olisi ryhdyttävä lisätoimiin ja toteutettava ennaltaehkäiseviä toimenpiteitä. Lee JC-Y, et al.

**Tulos**

Lasten ja nuorten syksyllä tapahtuva sairaalahoito ja siihen liittyvä sairaalahoito Hongkongissa: 12 vuoden takautuva tutkimus.

**Esimerkki 1.3**

Kausiluonteinen hyperakuutti panuveiitti (SHAPU) on Nepalissa esiintyvä mahdollisesti sokaiseva silmäsairaus, joka vaikuttaa pääasiassa nuoriin lapsiin. Osittain puhdistetusta lasiaisnesteestä (VF) saadun nukleiinihapon satunnainen monistaminen paljasti ihmisen anelloviruksia SHAPU-potilaiden VF:ssä. Eri silmäsairauksia sairastavien potilaiden vertailevassa tutkimuksessa SHAPU-potilailla oli suurin riski anellovirusten esiintymiseen silmissään. Suurimmalla osalla SHAPU-potilaista oli useita anelloviruksia VF:ssä. Silmän anelloviruskuormitus ei eronnut SHAPU-potilaiden ja muiden kuin SHAPU-potilaiden välillä, eikä SHAPU-spesifistä anellovirusvarianttia havaittu. SHAPU-potilaiden ja muiden kuin SHAPU-potilaiden paritettujen seerumi- ja VF-näytteiden analyysi osoitti, että VF-näytteissä havaitut anellovirukset olivat todennäköisesti peräisin systeemisestä virusreservistä viremian aikana, mahdollisesti veren ja silmän välisen esteen rikkoutumisen kautta. Anellovirusten havaitseminen uveiittipotilaiden VF-näytteistä, erityisesti SHAPU-potilaiden VF-näytteistä, on välttämätöntä ja vaatii sen kliinisen merkityksen selvittämistä.

**Tulos**

Anellovirusten suuri esiintyvyys lasiaisnesteessä lapsilla, joilla on kausiluonteinen hyperakuutti panuveiitti.

**Esimerkki 1.4**

SARS-koronavirus (SARS-CoV) on vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) aiheuttaja. SARS-CoV:n piikki (S)-glykoproteiini välittää kalvojen fuusiotapahtumia viruksen tunkeutumisen ja viruksen aiheuttaman solujen välisen fuusion aikana. S-glykoproteiinin sytoplasminen osa sisältää neljä kysteiinirikasta aminohapporyhmää. Yksittäisiä kysteiiniryhmiä muutettiin vaihtamalla kysteiini aminohappoalaniiniksi, ja muutettujen S-glykoproteiinien kulkeutumista solupinnoille ja kykyä aiheuttaa solufuusio transienttisissa transfektiomäärityksissä testattiin. Välittömästi ennustetun transmembraanisen domeenin läheisyydessä sijaitsevan kysteiiniklusterin I mutageenisuus ei vähentänyt tuntuvasti solupinnan ekspressiota, vaikka S:n välittämä solufuusio väheni yli 50 % villityyppiseen S:ään verrattuna. Vastaavasti klusterin I vieressä sijaitsevan kysteiiniklusterin II mutageenisuus vähensi S:n välittämää solufuusiota yli 60 % villityyppiseen S:ään verrattuna, kun taas solupinnan ekspressio väheni alle 20 %. Kysteiiniryhmien III ja IV mutageneesi ei vaikuttanut tuntuvasti S:n solupinnan ilmentymiseen tai S:n välittämään solufuusioon. Villiintynyt S oli palmitoyloitunut, mistä on osoituksena 3 H-palmitiinihapon tehokas sisällyttäminen villiintyneisiin S-molekyyleihin. S-glykoproteiinien palmitoylaatio väheni merkittävästi mutanttien glykoproteiinien kohdalla, joissa oli klusterien I ja II kysteiinimuutoksia, mutta se oli suurelta osin muuttumatonta klusterien III ja IV mutanttien kohdalla. Nämä tulokset osoittavat, että S:n sytoplasminen domeeni on palmitoyloitunut ja että kalvoproksimaalisten kysteiiniklustereiden I ja II palmitoyloituminen voi olla tärkeää S:n välittämän solufuusion kannalta.

**Tulos**

SARS-koronaviruksen piikkiglykoproteiinin kysteiinirikkaan endodomeenin palmitoyloituminen on tärkeää piikin välittämässä solufuusiossa.

**Esimerkki 1.5**

Taustaa: Tartuntatautien seuranta on prosessi, jonka tulos heijastaa sekä todellisia tautisuuntauksia että yleistä tietoisuutta taudista. Jatkuvasti muuttuva tietoympäristö vaikuttaa potilaiden, terveydenhoitopalvelujen tarjoajien ja kansanterveysalan ammattilaisten päätöksiin hakeutua terveydenhuoltoon ja tarjota sitä sekä ilmoittaa tapauksista terveysviranomaisille. Seurantajärjestelmiin sisältyy siis ennakkoluuloja, jotka on luonnehdittava, jotta päätöksentekoa varten voidaan parantaa tilannetietoisuutta. Tavoitteenamme on kehittää tilastollinen kehys, jonka avulla voidaan luonnehtia influenssan seurantajärjestelmiä ja erityisesti niiden korrelaatiota tietoympäristön kanssa. Menetelmät: Kartoitimme Hongkongin influenssaseurannan tietojärjestelmiä, jotka kattavat terveydenhuollon tarjoajat, laboratoriot, päiväkodit ja vanhustenhoitokodit. Kehitettiin Bayesin hierarkkinen tilastollinen malli, jolla tutkittiin tilastollisia suhteita influenssan seurantatietojen ja informaatioympäristön välillä, jota edustavat HealthMapin hälytykset ja Googlen verkkokyselyt. Erilaisia malleja sovitettiin pandemian ulkopuolisille ja pandemiajaksoille, ja mallin sopivuutta arvioitiin käyttämällä yleisiä mallinvalintamenettelyjä. Tulokset: Jotkin seurantajärjestelmät, erityisesti pandemian puhjettua influenssaa varten kehitetyt ad hoc -järjestelmät, korreloivat muita enemmän tietoympäristön kanssa. Yleislääkärin (influenssan kaltaiseen sairauteen liittyvien potilaskäyntien prosenttiosuus kaikista potilaskäynneistä) ja laboratorion (positiivisten näytteiden prosenttiosuus) näyttävät heijastavan suhteellisesti todellisia tautisuuntauksia ja edustavan vähemmän tietoympäristöä. Influenssakohtaisia koodeja raportoinnissa käyttävät seurantajärjestelmät heijastavat yleensä sekä terveydenhuollon hakijoiden että palveluntarjoajien ennakkoluuloja. Päätelmät: Tämä tutkimus osoittaa, että tietyt influenssan seurantajärjestelmät korreloivat vähemmän informaatioympäristön kanssa kuin toiset, ja siksi ne saattavat olla luotettavampia indikaattoreita taudin aktiivisuudesta tulevissa taudinpurkauksissa. Vaikka tässä tutkimuksessa havaitut mallit saattavat muuttua tulevissa taudinpurkauksissa, seurantatietojen mahdollinen herkkyys säilyy todennäköisesti tulevaisuudessakin, ja se olisi otettava huomioon seurantatietoja tulkittaessa.

**Tulos**

Influenssan seurantajärjestelmien suorituskyvyn kuvaaminen: Bayesin hierarkkisen tilastollisen mallin soveltaminen Hongkongin valvontatietoihin.

**Esimerkki 1.6**

RNaasi L on ankyrin repeat-domeenia sisältävä kaksoisendoribonukleaasi-pseudokinaasi, joka aktivoituu epätavallisilla 2, 0 5 0 -oligoadenylaatti (2-5A) -sekundaarisanomiaineilla ja joka estää virusinfektioita korkeammissa selkärankaisissa. Huolimatta sen merkityksestä interferonien säätelemässä synnynnäisessä virusimmuniteetissa sen tarkasta vaikutusmekanismista tiedetään suhteellisen vähän. Tässä esitämme 2,5 Å:n ja 3,25 Å:n röntgenkristalli- ja pienen röntgenkulman sirontarakenteiden funktionaalisen karakterisoinnin RNaasi L:stä, joka on sitoutunut luonnolliseen 2-5A:n aktivaattoriin ADP:n kanssa ja ilman ADP:tä tai ei-hydrolysoituvaa ATP:tä jäljittelevää AMP-PNP:tä. Nämä tutkimukset paljastavat, miten 2-5A:n tunnistaminen ankyriini-toistodomeenin ja pseudokinaasidomeenin vuorovaikutusten kautta yhdessä nukleotidin sitoutumisen kanssa asettaa jäykän, toisiinsa kietoutuneen dimeerikonfiguraation, joka on välttämätön RNaasin katalyyttisille ja antiviraalisille toiminnoille. RNaasi L:n pseudokinaasidomeenin osallistuminen 2-5A:n aistimiseen, nukleotidin sitoutumiseen, dimerisaatioon ja ribonukleaasitoimintoihin korostaa eukaryoottisen proteiinikinaasipolven evolutiivista sopeutumiskykyä.

**Tulos**

Artikkeli 2-5A:han sitoutuneen pseudokinaasi RNaasi L:n dimeerinen rakenne paljastaa perustan interferonin aiheuttamalle viruksenvastaiselle aktiivisuudelle.

**Esimerkki 1.7**

Taustaa - Hengitystieinfektiot ovat maailmanlaajuisesti yleisimpiä ihmisten tartuntatauteja, ja ne ovat johtava kuolinsyy alle 5-vuotiailla lapsilla. Tavoitteet-Tunnistetaan mahdolliset taudinaiheuttajat lapsipotilailla, joilla on selittämätön hengitystiesairaus. Tutkimusasetelma-Neljäkymmentäneljä nenänielun pesuaineita, jotka kerättiin talvikaudella 2004-05 hengitystiesairauksista kärsiviltä lapsipotilailta ja jotka olivat negatiivisia seitsemälle yleiselle hengitystiepatogeenille viljelmillä ja suorilla immunofluoresenssimäärityksillä, analysoitiin MassTag-PCR:llä. Ihmisen enterovirusten (HEV) ja rinovirusten (HRV) erottamiseksi toisistaan pikornavirusten suhteen positiiviset näytteet karakterisoitiin edelleen sekvenssianalyysillä. Tulokset: MassTag-PCR:llä havaittiin taudinaiheuttajaehdokkaita 27:ssä näytteessä 44:stä (61 %), jotka oli aiemmin arvioitu negatiivisiksi. Näistä 27 näytteestä 16 (59 %) sisälsi pikornaviruksia; näistä 9 (57 %) sisälsi hiljattain löydetyn rinovirusklaanin RNA:ta. Kolmella potilaalla havaittiin bocaviruksia RT-PCR:llä. Johtopäätökset-Tutkimuksemme vahvistaa, että multiplex MassTag-PCR tehostaa taudinaiheuttajien havaitsemista kliinisistä näytteistä, ja osoittaa, että aiemmin tunnistamattomat rinovirukset, jotka mahdollisesti muodostavat lajin HRV-C, voivat aiheuttaa merkittävän määrän lasten hengitystiesairauksia.

**Tulos**

Multiplex MassTag-PCR hengitystiepatogeeneille lasten nenänielun pesuissa, jotka ovat negatiivisia tavanomaisilla diagnostisilla testeillä, osoittaa, että äskettäin tunnistettuun Picornavirus-klaadiin kuuluvien virusten esiintyvyys on suuri.

**Esimerkki 1.8**

Suurin osa uusista tartuntataudeista on zoonoottista alkuperää. Metagenomista seuraavan sukupolven sekvensointia (metagenomic Next-Generation Sequencing, mNGS) on käytetty harvinaisten ja uusien infektioiden etiologioiden tunnistamiseen ja virusten monimuotoisuuden kuvaamiseen ihmis-, eläin- ja ympäristönäytteissä. Tässä tarkasteltiin systemaattisesti tutkimuksia, joissa tehtiin virusten mNGS-analyysejä tavallisissa kotieläimissä (naudat, pienet märehtijät, siipikarja ja siat). Löysimme 2481 tietuetta, ja 120 tietuetta otettiin lopulta mukaan ensimmäisen ja toisen seulan jälkeen. Siat olivat useimmin tutkittu kotieläin, ja siipikarjan näytteistä löydetty virusmonimuotoisuus oli suurin. Käytettävissä olevassa kirjallisuudessa raportoitiin tunnetuista eläinviruksista, zoonoosiviruksista ja uusista viruksista, mikä osoittaa mNGS:n kyvyn tunnistaa sekä tunnettuja että uusia viruksia. Metagenomisten tutkimusten kattavuus oli kuitenkin hajanainen, ja pienmärehtijöiden viroomista ja tutkittujen kotieläinten hengitystieviroomista oli vain vähän tietoja. Olennaisia metatietoja, kuten karjan ikä ja tilatyypit, mainittiin saatavilla olevassa kirjallisuudessa harvoin, ja vain 10,8 prosenttia tietokokonaisuuksista oli julkisesti saatavilla. Kotieläinten viromin syvällisempi ymmärtäminen on ratkaisevan tärkeää mahdollisten zoonoosien ja eläinpatogeenien havaitsemiseksi ja One Health -valmiuden varmistamiseksi. Metagenomitutkimukset voivat tarjota tätä taustatietoa, mutta vain yhdistettynä olennaisiin metatietoihin ja noudattaen FAIR-tietoperiaatteita (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable). Virukset 2020, 12, 107 2 of 22 parvet ja luonnonvaraiset linnut, mikä viittaa siihen, että olemassa olevat bioturvallisuusmittaukset eivät pysyneet karjan tehostumisvauhdin mukana [16] . Vuosina 2007-2010 Alankomaissa raportoitiin laajamittaisesta Q-kuumeen taudinpurkauksesta, joka koski yli 3500 ihmistapausta ja johti valtaviin taloudellisiin menetyksiin [17, 18] . Coxiella burnetii -tartuntojen yleistymisen taustalla oli todennäköisesti vuohitilojen määrän jyrkkä kasvu, ja eläinten aborttiaallot olivat jääneet huomaamatta. Politiikka, jonka mukaan aborttiepidemioista ilmoitettiin vapaaehtoisesti eläintautipesäkkeistä eläintautivirastolle, esti Q-kuumeen leviämisen oikea-aikaisen havaitsemisen ja näin ollen varhaisten toimenpiteiden toteuttamisen. Nämä esimerkit osoittavat, että kotieläintalouden zoonoosiriskejä olisi hallittava huolellisesti ja ne olisi mukautettava kotieläintuotannon tehostamiseen. One Health -lähestymistapaa on käytetty useiden sidosryhmien, kuten eläinlääkäreiden, kliinisten lääkäreiden, epidemiologien, virologien, mikrobiologien, ekologien ja poliittisten päätöksentekijöiden, välisen yhteistyön edistämiseksi EID:ien ehkäisemiseksi ja valvomiseksi ihmisen, eläimen ja ympäristön rajapinnassa [19]. Karjan ja sitä ympäröivän ympäristön valvonta on varhaisen havaitsemisen tunnusmerkki, mutta se kohdistetaan tällä hetkellä tunnettuihin riskeihin. Seuraavan sukupolven sekvensointitekniikoiden (NGS) kehittyminen sekä bioinformatiikan ja laskennallisten välineiden nopea kehitys tarjoavat uusia mahdollisuuksia EID-valvontaan sekä laadullisesti että laajuudeltaan. Erityisesti metagenominen NGS (mNGS) mahdollistaa kaikkien näytteessä olevien mikrobien ja virusten puolueettoman havaitsemisen, mikä tarjoaa mahdollisuuksia harvinaisten tai uusien infektioiden etiologioiden oikea-aikaiseen havaitsemiseen sekä elintarvike- ja vesivälitteisten virusten valvontaan [20] [21] [22] [23] [24] [25] [26]. MNGS:n käyttö mahdollisena seurantatyökaluna edellyttää kuitenkin syvällisempää ymmärrystä siitä, mikä on "normaalia" monimuotoisuutta ihmisissä [27] sekä luonnonvaraisissa eläimissä [28,29] ja tuotantoeläimissä [30]. Lajispesifisten metagenomien karakterisointia voitaisiin mahdollisesti käyttää valvonnan perustana varhaisessa havaitsemisessa ja patogeenien liikkumisen seuraamisessa eri isäntien välillä, ja sitä on edistetty hankkeissa, kuten maailmanlaajuisessa viromihankkeessa [31]. Tällaisia sovelluksia varten tarvitaan kuitenkin yksityiskohtaista taustatietoa kattavuudesta, edustavuudesta ja tutkimusasetelmien harhoista. Tässä tehdään systemaattinen katsaus, jossa kartoitetaan saatavilla oleva kirjallisuus, jossa on tehty virusten mNGS-analyysejä yleisillä tuotantoeläimillä, kuten naudoilla, pienillä märehtijöillä (vuohet ja lampaat), siipikarjalla ja sioilla. Tarkastelimme näiden tutkimusten tietojen ja metatietojen saatavuutta ja laatua. Lisäksi teimme yhteenvedon yleisistä tuotantoeläimistä raportoiduista viroomeista, jotta nämä toimet voitaisiin muuntaa tavallisten tuotantoeläinten taustavirusmonimuotoisuusprofiileiksi, jotka ohjaavat varautumista tauteihin karjan ja ihmisen rajapinnalla.

**Tulos**

virukset Virusmetagenomiikka tuotantoeläimissä: Systemaattinen katsaus

**Esimerkki 1.9**

Tavoitteet: SARS-CoV-2:n tarttumisesta lennon aikana ei ollut tietoja. Tässä raportoimme COVID-19:n lentoteitse tapahtuvasta tartuntaryhmästä ja kuvaamme näiden potilaiden kliinisiä ominaisuuksia. Menetelmät: Lennon jälkeen 12 potilaalla todettiin laboratoriossa vahvistettu COVID-19. Kymmenen potilasta otettiin hoitoon nimettyyn sairaalaan. Tiedot kerättiin 25. tammikuuta ja 28. helmikuuta 2020 välisenä aikana. Kliiniset tiedot kerättiin takautuvasti. Tulokset: Kaikki potilaat ovat matkustajia ilman lentoemäntiä. Mediaani-ikä oli 33 vuotta, ja 70 prosenttia oli naisia. Yhtään potilasta ei otettu teho-osastolle, eikä yksikään potilas menehtynyt 28. helmikuuta mennessä. Itämisaika oli keskimäärin 3,0 vuorokautta, ja sairauden puhkeamisesta sairaalaan tuloon kului 2 vuorokautta. Yleisin oire oli kuume. Kaksi potilasta oli oireettomia ja rintakehän tietokonetomografiassa negatiivisia koko taudin ajan. Vastaanottohetkellä alustava RT-PCR oli positiivinen yhdeksällä potilaalla, mutta alustava rintakehän TT oli positiivinen vain puolella potilaista. Rintakehän TT:n keuhkojen kokonaisvaikeusasteen mediaani oli 6. Lisäksi todettiin "Crazy-Paving"-kuvio, keuhkopussin effuusio ja lasimaasyntyisiä kyhmyjä. Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ei ole sallittua ilman lupaa. tekijä/rahoittaja, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen ikuisesti.

**Tulos**

COVID-19:n lähetysklusteri lennon aikana: A Retrospektiivinen tapaussarja Juokseva otsikko: COVID-19:n lähetysklusteri lennon aikana.

**Esimerkki 1.10**

A B S T R A K T Interferonit (IFN) ovat keskeisiä sytokiineja, joilla on monipuolisia antiviraalisia ja soluja sääteleviä ominaisuuksia. IFN:ää tunnetaan kolmea eri tyyppiä (I-III), jotka perustuvat rakenteellisiin ominaisuuksiin, reseptorien käyttöön, solulähteeseen ja biologisiin toimintoihin. IFN:ien toimintaa välittää monimutkainen, osittain päällekkäinen transkriptio-ohjelma, joka käynnistyy vuorovaikutuksesta spesifisten reseptorien kanssa. Geneettinen monimuotoisuus, johon liittyy polymorfismeja ja mutaatioita, voi muokata IFN-vasteiden laajuutta ja alttiutta infektioille. Lähes kaikki virukset ovat kehittäneet mekanismeja IFN-vasteen kumoamiseksi, joihin liittyy sekä IFN-induktio- että efektorimekanismeja. IFN-tyyppien välisiä vuorovaikutuksia voi esiintyä sekä viruslääkkeiden että soluja säätelevien vaikutusten osalta monimutkaisessa vuorovaikutuksessa, johon liittyy sekä synergistisiä että antagonistisia vaikutuksia. Interferoniin liittyviä sairauksia, jotka eivät liity virusinfektioihin, voi esiintyä, ja joitakin niistä havaitaan usein IFN-hoitoa saavilla potilailla. Kaiken kaikkiaan IFN:t ovat pleiotrooppisia biologisia vasteen muuntajia, jotka aktivoituaan tuhansia geenejä saavat aikaan laajan kirjon toimintoja, jotka säätelevät solusykliä, erilaistumista, plasmakalvomolekyylejä, välittäjäaineiden vapautumista jne. ja joilla voi olla merkitystä solujen lisääntymiselle, synnynnäiselle ja adaptiiviselle immuniteetille, hematopoieesille, angiogeneesille ja muille elimistön toiminnoille. ß

**Tulos**

Tyypin I IFN-perheen jäsenet: Samankaltaisuus, erot ja vuorovaikutus

**Esimerkki 1.11**

Coxsackievirukset ovat suolistoviruksia, jotka tarttuvat usein ihmisiin. Tutkiaksemme coxsackievirusten patogeneesiä rokotimme hiiriä suun kautta coxsackievirus B3 (CVB3) Nancy-kannalla. Käyttämällä HeLa-soluplakkimäärityksiä agar-päällysteillä huomasimme, että jotkin ulostevirukset tuottivat >100 kertaa suurempia plakkeja kuin inokulaatiovirukset. Nämä suurten plakkien variantit syntyivät viruksen replikaation jälkeen useissa eri kudoksissa. Tunnistimme yhden aminohappomuutoksen, N63Y, VP3-kapsidiproteiinissa, joka riitti antamaan suurten plakkien fenotyypin. Villityyppisen CVB3:n ja N63Y-mutantin CVB3:n plakkien koot olivat samankokoisia, kun päällekkäiskerroksena käytettiin agaroosia agarin sijasta. Määritimme, että agarissa olevat sulfaattiglykaanit estivät plakkien muodostumista villityyppisellä CVB3:lla mutta ei N63Y-mutantti CVB3:lla. Lisäksi N63Y-mutantti CVB3 sitoi hepariinia, sulfatoitunutta glykaania, vähemmän tehokkaasti kuin villityyppinen CVB3. Vaikka N63Y-mutantti CVB3:lla oli kasvuhäiriö viljellyissä soluissa ja sen kiinnittyminen oli heikentynyt, sen lisääntyminen ja patogeneesi oli tehostunut hiirissä. Infektio N63Y-mutantti-CVB3:lla aiheutti vakavampia maksavaurioita kuin infektio villityyppi-CVB3:lla, todennäköisesti siksi, että N63Y-mutantti-CVB3 leviää tehokkaammin maksaan. Tietomme vahvistavat ajatusta siitä, että viljelyyn sopeutettujen laboratorioviruskantojen kunto voi olla heikentynyt in vivo. N63Y-mutantti CVB3 voi olla hyödyllinen alustana viruksen sopeutumisen ja patogeneesin ymmärtämiseksi eläinkokeissa. TÄRKEÄÄ Coxsackievirukset tarttuvat usein ihmisiin, ja vaikka monet infektiot ovat lieviä tai oireettomia, ne voivat aiheuttaa vakavia seurauksia, kuten sydäntulehduksen. Useimmissa koksasakkieviruksilla ja muilla viruksilla tehdyissä tutkimuksissa käytetään laboratoriossa mukautettuja viruskantoja, koska ne lisääntyvät tehokkaasti soluviljelmissä. Käytimme soluviljelyyn mukautettua CVB3-kantaa, Nancya, tutkiaksia viruksen replikaatiota ja patogeneesiä suun kautta rokotetuissa hiirissä. Havaitsimme, että hiiret erittivät viruksia, jotka erosivat syötetyistä viruksista, koska ne muodostivat soluviljelmässä erittäin suuria plakkeja. Tunnistimme yhden mutaation, VP3 N63Y, joka riitti suurten plakkien muodostumiseen. N63Y-mutaatiovirusten glykaanisidonta ja replikaatio soluviljelmässä on heikentynyt, mutta niiden replikaatio ja virulenssi hiirissä on kuitenkin tehostunut. Käytämme nyt N63Y-mutantti-CVB3:a parannettuna järjestelmänä viruspatogeneesitutkimuksiin. Viittaus Wang Y, Pfeiffer JK. 2016. Suuren plakkivariantin ilmaantuminen coxsackievirus B3:n infektoimilla hiirillä. mBio 7(2):e00119-16.

**Tulos**

Coxsackievirus B3:n tartuttamien hiirten suurikokoisen plakkivariantin ilmaantuminen

**Esimerkki 1.12**

Molekyylitason nukleiinihappobiosensorin valmistuksessa oli vielä useita haasteita, kuten pinnan immobilisoinnin hallinta, yksittäisen epäsuhtaisuuden havaitseminen ja alhainen virtavaste. Näiden ongelmien ratkaisemiseksi kirjoittajat esittelivät ensimmäistä kertaa uuden rinnakkaisrakenteisen dsDNA/rekombinantti atsuriinin (PSD/rAzu) hybridirakenteen yleistä nukleiinihappojen havaitsemista varten. PSD suunniteltiin ja otettiin käyttöön optimoidulla 8 Ag + -ionilla, jotta sillä olisi suurempi johtavuus kuin kanonisella dsDNA: lla, ja se konjugoitiin rAzun kanssa yleisen alustan kehittämiseksi miRNA: iden ja virus-DNA: iden sähkökemialliselle havaitsemiselle, jolla on korkea toistettavuus ja ultra-herkkyys yhden emäsparin mutaatiota kohtaan. Bifunktionaalisen rAzun ansiosta, joka toimii selektiivisenä välilevynä ja sähkökemiallisen signaalin välittäjänä, kohdesäikeen läsnä ollessa epätäydellinen PSD siirtyi nopeasti pystyasentoon, jossa Ag + -ionit interkaloituivat dsDNA:iden C-C-epäsuhteiden väliin kunkin rakenteen yläosassa, joka oli tuotu kauemmas elektrodin pinnasta, mikä johti Ag + -ionien merkittävään sähkökemiallisen signaalin laskuun. Hybridirakenteen yli tapahtuvan varauksensiirron (CT) mekanismi selvitettiin yksinkertaisesti lajien redox-potentiaalin sijainnin perusteella. DNA:iden sähkönjohtavuus mitattiin käyttämällä pyyhkäisevää tunnelointispektroskopiaa (STS) molekyylitasolla ja Ag + -ionin pelkistymiseen perustuvaa syklistä voltammetriatekniikkaa (CV). Ehdotettu PSD/rAzu-hybridirakenne, jolla on suuri kyky yksittäisten mutaatioiden tunnistamiseen ja miRNA-ekspressiotason profilointiin syöpäsoluissa, on erittäin lupaava alusta, jota voidaan tutkia erilaisten nanomittakaavan biosensoreiden ja bioelektronisten laitteiden kehittämiseksi edelleen.

**Tulos**

Rinnakkaisrakenteiseen dsDNA/rekombinantti-atsuriinihybridiin perustuva sähkökemiallinen nukleiinihappojen havaitseminen

**Esimerkki 1.13**

Graafinen tiivistelmä Kohokohdat d TRIM25 sitoutuu influenssan ribonukleoproteiineihin (vRNP) ytimessä d vRNP:ssä, TRIM25 toimii puristimena estääkseen viruksen RNA-ketjun pidentymistä d TRIM25:n rajoitus influenssan RNA-synteesissä voidaan rekonstruoida in vitro d Influenssa NS1-proteiini antagonisoi tämän TRIM25:n influenssanvastaisen aktiivisuuden YHTEENVETO TRIM25 on E3-ubikitiiniligaasi, joka aktivoi RIG-I:n edistääkseen virusinterferonivasteen torjuntaa. Kaikkien influenssa A -viruskantojen NS1-proteiini sitoo TRIM25:tä, vaikka kaikki viruskannat eivät estä interferonivastausta, mikä viittaa vaihtoehtoisiin mekanismeihin TRIM25:n toiminnalle. Tässä esitämme TRIM25:n ydintoiminnan roolin influenssa A -viruksen replikaation rajoittamisessa. TRIM25 estää viruksen RNA-synteesiä suoralla mekanismilla, joka on riippumaton sen ubikitiiniligaasiaktiivisuudesta ja interferonireitistä. Viruksen NS1-proteiini voi estää tämän aktiivisuuden. TRIM25:n viruksen RNA-synteesin esto johtuu sen sitoutumisesta viruksen ribonukleoproteiineihin (vRNP), yksittäisiä viruksen RNA-segmenttejä sisältäviin rakenteisiin, viruspolymeraasiin ja useisiin viruksen nukleoproteiineihin. TRIM25:n sitoutuminen ei estä viruspolymeraasin käynnistämää kappedilla varustetun RNA:n käynnistämää viruksen mRNA-synteesiä. Pikemminkin RNA-ketjun pidentymisen alkaminen estyy, koska TRIM25 estää RNA:n siirtymisen polymeraasikompleksiin.

**Tulos**

Nuclear TRIM25 kohdistuu erityisesti influenssaviruksen ribonukleoproteiineihin estääkseen RNA-ketjun pidentymisen alkamisen Artikkeli Nuclear TRIM25 kohdistuu erityisesti influenssaviruksen ribonukleoproteiineihin estääkseen RNA-ketjun pidentymisen alkamisen

**Esimerkki 1.14**

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli vertailla hiiren hepatiittiviruksen (MHV), vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) ja tarttuvan gastroenteriittiviruksen (TGEV) ei-rakenteellisen proteiinin (nsp) 15 biokemiallisia ja biologisia ominaisuuksia viruksen infektoimissa ja ektooppisesti ilmentämissä soluissa. Viruksen infektoimissa soluissa MHV nsp15 jakautui epätasaisesti koko sytoplasmaan mutta pääasiassa perinukleaariselle alueelle. Kun se ekspressoitiin N-terminaalisena tehostetun vihreän fluoresenssiproteiinin (EGFP) fuusiomolekyylinä, se muodosti pääasiassa pilkkuja sytoplasmassa. Sitä vastoin SARS-CoV- ja TGEV EGFP-nsp15:t jakautuivat tasaisesti koko soluun eivätkä muodostaneet pilkkuja. Deletiointikartoituskokeissa tunnistettiin kaksi domeenia, jotka ovat vastuussa MHV EGFP-nsp15:n pilkkujen muodostumisesta: domeeni I (aa101-150) ja domeeni III (aa301-374). Mielenkiintoista on, että domain II:lla (aa151-250) oli inhiboiva vaikutus domain III:een, mutta ei domain I:n välittämään pilkkeenmuodostukseen. Pelkkä pienen (35aa) sekvenssin ilmentäminen domain III:ssa riitti muodostamaan pilkkuja kaikilla kolmella viruksen nsp15:llä. Ympäröivien sekvenssien lisääminen domain III:een poisti kuitenkin pilkkujen muodostumisen TGEV nsp15:llä mutta ei MHV:n ja SARS-CoV:n nsp15:llä. Lisäkokeet domainien vaihtamiseksi paljastivat SARS-CoV:n ja TGEV:n nsp15:ssä muita pilkkuja aiheuttavia ja estäviä elementtejä. Homotyyppinen vuorovaikutus, johon liittyy MHV:n nsp15:n domain III, osoitettiin edelleen biokemiallisesti. Lisäksi arvioitiin ilmentyneiden nsp15:ien biologisia toimintoja MHV-infektoituneissa soluissa. Todettiin, että EGFP-nsp15s:n vaikutukset MHV:n replikaatioon olivat sekä viruslaji- että nsp15-domeeniriippuvaisia. Yhdessä nämä tulokset korostavat MHV:n, TGEV:n ja SARS-CoV:n nsp15:n erilaisia biokemiallisia ja biologisia toimintoja isäntäsoluissa.

**Tulos**

Vertaileva in vivo -analyysi hiiren, sian ja vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirusten nsp15-endoribonukleaasista.

**Esimerkki 1.15**

Johdanto: Tässä tutkimuksessa verrataan 14 yleisen hengitystieviruksen havaitsemista kahdella eri reaaliaikaisella käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiomenetelmällä (rRT-PCR): Centers for Disease Control and Prevention -laitoksen kehittämät talon sisäiset singleplex-testit ja kaupallisesti saatavilla oleva Fast Track Diagnostic (FTD®) Respiratory Pathogens 33 -monitesti. Menetelmät: Yhteensä 217 nenänielun pyyhkäisynäytettä analysoitiin CDC:n singleplex-rRT-PCR- ja FTD® Respiratory Pathogens 33 multiplex -testillä 14 hengitystieviruksen osoittamiseksi. Tulokset: Tulokset osoittivat, että 179/217 (82,5 %) näytettä oli positiivisia singleplex-menetelmällä ja 183/217 (84,3 %) FTD® Respiratory Pathogens 33 multiplex -testillä. Erinomainen tai tyydyttävä yhdenmukaisuus saavutettiin kaikkien virusten osalta (k N 0,6) lukuun ottamatta parainfluenssavirusta 4 (k = 0,24) ja influenssa B:tä (k = 0,51). Päätelmät: Vaikka multipleksiset FTD-pakkaukset olivat kalliimpia kuin singleplex-määritys, FTD-pakkauksilla saatiin nopeita tuloksia lyhyemmässä ajassa, mikä lisäsi diagnoosin tehokkuutta.

**Tulos**

FTD®-hengitystiepatogeenien 33:n ja CDC:n singleplex-määrityksen vertailu hengitystievirusten osoittamiseksi: Tutkimus Kamerunista

**Esimerkki 1.16**

Biologiset oskillaattorit ovat elintärkeitä eläville organismeille, jotka käyttävät niitä kellonaikaisina ajallisesti herkissä prosesseissa. Paljon ei kuitenkaan tiedetä mekanismeista, jotka voivat synnyttää koherenttia oskillaattorikäyttäytymistä, muutamia poikkeuksia lukuun ottamatta (esim. eksplisiittisesti viivästetyt itsesäätäjät ja yksinkertaiset mallit tiettyjen organismien vuorokausikelloista). Esittelemme ehkä yksinkertaisimman mahdollisen luotettavan geeniverkon oskillaattorin, itseään tukahduttavan geenin. Osoitamme, että sitoutumiskooperatiivisuus, jota ei ole tarkasteltu yksityiskohtaisesti tässä yhteydessä, voi yhdessä pienen määrän välivaiheita kanssa luoda koherentin oskillaation. Huomaamme myös, että kohina hämärtää rajaa oskilloivan ja ei-oskilloivan käyttäytymisen välillä.

**Tulos**

Värähtely, yhteistoiminnallisuus ja välitilat itseään tukahduttavassa geenissä

**Esimerkki 1.17**

Rekombinantti Fab, joka tunnistaa dengueviruksen proteiini E:n (296 -400) alueella sijaitsevan neutralisoivan epitoopin, saatiin kloonatuista hybridoomasoluista, jotka erittivät hiiren monoklonaalista vasta-ainetta (mAb) 4E11. Fd- ja kevyen ketjun vasta-ainegeenit monistettiin polymeraasiketjureaktiolla, kloonattiin fagemidivektoriin pMad, ekspressoitiin bakteereissa Fab-fragmenttien tuottamiseksi ja sekvensoitiin. mAb 4E11:llä, erityisesti sen kevyen ketjun komplementaarista määräävillä alueilla, oli homologisia yhteyksiä kahteen muuhun viruksenvastaiseen mAb:hen. Vanhemman mAb:n ja kloonatun Fab:n affiniteetin MalE-E(296-400)-fuusio-proteiiniin osoitettiin olevan samaa suuruusluokkaa eli nanomolaarinen. Fab 4E11:n neutralointikapasiteetin todettiin olevan serotyypistä riippuen 8-4-kertainen tai vähemmän pienempi kuin mAb 4E11:n, joten Fabilla voi olla pienempi antiviraalinen aktiivisuus kuin mAb:llä in vitro.

**Tulos**

Rekombinantti Fab neutraloi dengueviruksen in vitro

**Esimerkki 1.18**

Immuunitrombosytopeeninen purppura (ITP) on autoimmuunisairaus, joka aiheuttaa yksittäistä trombosytopeniaa. Autoimmuuniprosessin laukaisijaksi on tunnistettu monia viruksia, kuten HIV, MCV, EBV, parvovirus, vihurirokko ja tuhkarokko. Aiemmin ei kuitenkaan ole raportoitu ITP:tä koronavirusinfektion yhteydessä. Kuvaamme tapauksen terveestä miehestä, jolla oli vaikea ITP, johon liittyi kallonsisäinen verenvuoto ylähengitystieinfektion jälkeen. Infektioseulassa todettiin koronavirusinfektio. - Koronavirus voi aiheuttaa vaikeaa immuunitrombosytopeenista purppuraa (ITP). - Aivoverenvuoto on harvinainen ITP:n oire. - Suonensisäinen immunoglobuliini ja steroidit ovat erittäin tehokkaita hoitoja vaikeaan ITP:hen.

**Tulos**

European Journal of Case Reports in Internal Medicine Severe Immune Thrombocytopenia Complicated by Intracerebral Haemorrhage Associated with Coronavirus Infection: Tapausselostus ja kirjallisuuskatsaus

**Esimerkki 1.19**

Testasimme "jousikuormitetun" konformaatiomuutoksen roolia influenssahemagglutiniinin (HA) fuusiomekanismissa arvioimalla 10 pistemutaation vaikutuksia alueella, jolla on suuri käämityskyky, HA2 54-81. Mutantit sisälsivät proliinisubstituutioita HA2:n kohdissa 55, 71 ja 80 sekä kaksoisproliinisubstituution jäännöksissä 55 ja 71. Mutantit ekspressoitiin COS- tai 293T-soluissa ja testattiin solupinnan ekspressiota ja rakenteellisia ominaisuuksia sekä niiden kykyä muuttaa konformaatiota ja indusoida fuusio matalassa pH:ssa. Havaitsimme seuraavaa: Spesifiset mutaatiot vaikuttivat HA-trimerin tarkkaan hiilihydraattirakenteeseen ja taittumiseen. Kaikki mutantit muodostivat kuitenkin trimeerejä, joita voitiin ilmentää solun pinnalla muodossa, joka voitiin proteolyyttisesti pilkkoa esiasteesta, HA0:sta, fuusion sallivaan muotoon, HA1-S-S-HA2. Kaikki mutantit reagoivat tärkeintä antigeenistä kohdetta vastaan annetun vasta-aineen kanssa ja sitoivat punasoluja. Seitsemässä mutantissa kymmenestä mutantista konformaatiomuutos oli villiä tyyppiä (wt) tai lievästi kohonnut pH-riippuvuus. V55P:llä lipidien sekoittumisen alkunopeus väheni huomattavasti ( ف 60-80 %). Muut yksittäiset mutantit osoittivat tehokasta fuusioitumista samalla pH-riippuvuudella kuin wt-HA. Kaksoisproliinimutantilla V55P/S71P ei ollut fuusioaktiivisuutta, vaikka se ilmentyi hyvin solun pinnalla proteolyyttisesti pilkkoutuneena trimeerinä, joka pystyi sitomaan punasoluja ja muuttamaan konformaatiota alhaisessa pH:ssa. Sekä V55P:n että V55P/S71P:n fuusion heikkeneminen tapahtui ulkolehtien lipidien sekoittumisen tasolla. Tulkitsemme tuloksemme tukevan hypoteesia, jonka mukaan fuusio edellyttää jousitettua konformaatiomuutosta. Vaihtoehtoista mallia käsitellään.

**Tulos**

Influenssahemagglutiniinin "jousikuormitetun" kierrealueen yksittäiset tai kaksinkertaiset proliinisubstituutiot heikentävät tai poistavat membraanifuusioaktiivisuuden.

**Esimerkki 1.20**

Influenssa A(H1N1)-virus, joka on korkean riskin tartunnanaiheuttaja, voi aiheuttaa vakavan akuutin keuhkovaurion, joka johtaa merkittävään sairastuvuuteen ja kuolleisuuteen. Angiotensiiniä konvertoivalla entsyymillä 2 (ACE2), joka on reniini-angiotensiinijärjestelmän (RAS) negatiivinen säätelijä, on suojaava rooli akuutin keuhkovaurion patogeneesissä. Tässä tutkimuksessa osoitettiin, että ACE2-proteiinitasot alenivat merkittävästi H1N1-virusinfektion jälkeen, mutta se ei ollut välttämätön viruksen replikaatiolle. ACE2-proteiinin alasääntely liittyi todennäköisesti ACE2-proteiinin hajoamiseen proteasomireitin kautta pikemminkin kuin ACE2:n irtoamiseen. Lopuksi havaitsimme, että ACE2:n pilkkoutumista voi säädellä influenssan neuraminidaasi (NA), mikä poikkesi olennaisesti ACE2:n klassisesti irtoamisen aiheuttamasta proteolyyttisestä pilkkoutumisesta.

**Tulos**

Influenssa A(H1N1)-viruksen neuraminidaasiproteiinin aiheuttama angiotensiinikonvertaasientsyymi 2:n alasäätely.

**Esimerkki 1.21**

Kokkidioosi on taloudellisesti merkittävä siipikarjan tauti, jonka aiheuttaja on Eimeria-lajin loinen, alkueläin. Tauti voi johtaa huonoon rehun hyväksikäyttöön, painonnousun vähenemiseen ja nekroottisen suolitulehduksen kehittymiseen. Kokkidioosin ehkäisemiseksi siipikarjaa rokotetaan yleensä elävällä, sporuloituneella ookystamassalla, joka levitetään rokotuskotelolla hautomossa. Perinteisesti kokkidiorokotteet on levitetty karkealla ruiskutuksella vesipohjaiseen laimennusaineeseen, mutta Yhdysvaltojen markkinoille on tullut uutta tekniikkaa, jossa käytetään geelilaimennusaineita. Geelilaimennusaineilla voi olla vaihteleva viskositeetti, ja ne "tiputetaan" poikasille levitystangolla. Uskotaan, että geelipisarat pysyvät linnuilla pidempään kuin vesipohjaiset pisarat, mikä antaa linnuille pidemmän ajan siistimiseen ja ookystien nielemiseen. Tässä kokeessa verrattiin kaupallisen kokkidiorokotteen tehoa vesipohjaisella laimennusaineella, viskoosisemmalla geelilaimennusaineella ja vähemmän viskoosisella geelilaimennusaineella levitettynä. Ulostenäytteitä kerättiin useina ajankohtina rokottamisen jälkeen rokotteen ookystien irtoamisen määrittelemiseksi. Ensimmäisen syklin aikana (5-8 päivää rokotuksen jälkeen) tapahtuva irtoaminen oli yhteydessä kustakin levitysmenetelmästä saatujen ookystien määrään, ja suurempia annoksia saaneet ryhmät irtoivat enemmän ookystia. Toisessa syklissä (12-15 päivää rokotuksen jälkeen) irtoaminen kuitenkin väheni viskoosimman geelin ryhmässä. Kanat altistettiin Eimeria maxima -okystoille, ja 7 päivää altistumisen jälkeen kirjattiin kehon painonnousu sekä karkeat ja mikroskooppiset vauriot, jotta voitiin arvioida eri rokotussovellusten suojaustasoja. Kaikki rokotetut ryhmät näyttivät olevan suojattuja ruumiinpainonnousun ja vaurioiden pisteytyksen perusteella. Tämän hankkeen tulokset osoittavat, että kaikki rokotussovellukset suojaavat tehokkaasti Eimeria maxima -haastetta vastaan, kun käytetään asianmukaista rokoteannosta, joka mahdollistaa toistuvan ookystakierron pentueessa rokotuksen jälkeen.

**Tulos**

Kokkidia-rokotteen arviointi suihke- ja geelikäytön avulla

**Esimerkki 1.22**

Koiran tarttuva hengitystiesairaus (CIRDC) liittyy useisiin tekijöihin. Mahdollinen tartuntalähde voi olla yhteisöperäinen infektio (CAI) tai sairaalainfektio (HAI), mutta näiden kahden reitin muuttuvia tekijöitä ei ole kuvattu hyvin. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli i) tutkia koirien hengitystievirusten, kuten influenssan (CIV), parainfluenssan, virtsarakon (CDV), hengitystiekoronaviruksen (CRCoV), adenovirus-2:n ja herpesviruksen, poikkileikkaustutkimus hengitystiesairaiden koirien keskuudessa ja ii) analysoida niihin mahdollisesti liittyviä riskitekijöitä. Yhteensä tutkittiin 209 hengitystiesairasta koiraa, joista 133 oli CAI- ja 76 HAI-koiraa. Kustakin koirasta otettiin näytteet sekä nenä- että nielunäytteistä, ja ne tutkittiin CIRDC-virusten osoittamiseksi multipleksi-PCR:n avulla. Molemmissa ryhmissä havaittiin kuusi CIRDC:hen liittyvää virusta, joista CIV ja CRCoV olivat yleisimpiä. Ainoastaan CDV:tä esiintyi merkittävästi enemmän CAI- kuin HAI-koirilla. Useita viruksia havaittiin 81,2 prosentissa CAI- ja 78,9 prosentissa HAI-koirista. CIV:n ja CRCoV:n yhteishavaintoja oli eniten, ja niitä havaittiin useimmiten yhdessä muiden CIRD-virusten kanssa. Lisäksi kliininen vakavuusaste oli selvästi yhteydessä tartunnan saaneiden koirien ikään, mutta ei rokotustilanteeseen, sukupuoleen tai tartuntareittiin. Koska tutkimuksessa ei ollut mukana terveitä tai vertailukoiria, CIRD-virusinfektioiden esiintyvyyttä ei voitu arvioida.

**Tulos**

Yhteisössä ja sairaalassa todetun koirien viruksen aiheuttaman hengitystieinfektiosairauden poikkileikkaustutkimus ja riskitekijöiden analyysi.

**Esimerkki 1.23**

Torstaina 30. tammikuuta 2020 Maailman terveysjärjestö WHO julisti koronavirustauti-2019:n (COVID-2019) kansainvälisesti merkittäväksi kansanterveydelliseksi hätätilanteeksi. Sen jälkeen, kun se todettiin joulukuun 2019 lopulla Wuhanissa, Hubein maakunnassa, Kiinan kansantasavallassa, muihin maihin tuotujen tapausten määrä on lisääntynyt, ja epidemiologinen kartta muuttuu nopeasti. Toisaalta ruumiinlämmön (kuumeen) seulonta on tärkein testi, joka tehdään maahantulopaikoissa eli lentokentillä palaaville matkustajille useimmissa maissa, joissa resurssit ovat rajalliset. Äskettäinen raportti COVID-19:n oireettomasta kontaktiteitse tapahtuvasta leviämisestä ja matkustajista, jotka läpäisivät oireisiin perustuvan seulonnan ja joiden COVID-19-testit olivat positiivisia käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiota (RT-PCR) käyttäen, kyseenalaistaa kuitenkin tämän lähestymistavan, sillä ruumiinlämpöseulonnasta voi jäädä huomaamatta matkustajia, joilla on tautia itävä tauti, tai matkustajia, jotka salaavat kuumeen matkan aikana. Tämän vuoksi suositellaan matkustusrajoituksia suuririskisille alueille ja alueilta ja/tai 14 päivän karanteenia suuririskisiltä alueilta tuleville matkustajille COVID-19:n mahdollisen maahantuonnin estämiseksi. Tällä hetkellä RT-PCR on luotettava testi sekä oireisen että oireettoman COVID-19:n havaitsemiseksi.

**Tulos**

Coronavirus-tauti-2019: onko kuume riittävä seulonta palaaville matkustajille?

**Esimerkki 1.24**

PubChem-tietokannan kattavat tiedot pienistä molekyyleistä ja niiden biologisista aktiivisuuksista antavat kemoinformatiikan tutkijoille mahdollisuuden päästä käsiksi laajamittaisiin biologisia aktiivisuustietoihin ja hyödyntää niitä lääkeaineprofiilien tarkkuuden parantamiseksi. Kvantitatiivista rakenne-aktiivisuussuhdetta (Quantitative Structure-Activity Relationship) käytettiin luokittelua varten aktiivisten/vaikuttavien yhdisteiden ennustamiseen suhteessa yleiseen biologiseen aktiivisuuteen, kasvainten vastaiseen ja antibioottiseen aktiivisuuteen käyttäen PubChem-tietokannan 1804 yhdisteen aineistoa. AntiMarin-tietokannan merellisten ja mikrobiperäisten luonnontuotteiden aineistosta seulottiin parhaita luokittelumalleja antibiootti- ja kasvainvastaista toimintaa varten - 5-7 ja 16 uutta johtavaa yhdistettä ehdotettiin antibiootti- ja kasvainvastaisten lääkkeiden suunnittelua varten. Kaikki lähestymistapamme avulla ehdotetut yhdisteet luokitellaan AntiMarin-tietokannassa ei-antibioottisiksi ja ei-antituumoriyhdisteiksi. Kirjallisuudessa on äskettäin raportoitu useiden ehdottamiemme johtavien yhdisteiden olevan aktiivisia.

**Tulos**

merihuumeet Kemoinformatiikan lähestymistapa lyijyn kaltaisten molekyylien löytämiseen merestä ja mikrobeista kasvainlääkkeiden ja antibioottilääkkeiden kehittämiseksi.

**Esimerkki 1.25**

Mikrohelmien funktionalisoinnista oligonukleotideilla on tullut välttämätön tekniikka korkean läpimenon aptameerien valinnassa SELEX-protokollissa. Sen lisäksi, että mikrohelmet ovat yksinkertaistaneet sitoutuvien ja sitoutumattomien aptameerikandidaattien erottelua, ne ovat helpottaneet muiden tekniikoiden, kuten emulsio- PCR:n (ePCR) ja fluoresenssiaktivoidun solulajittelun (FACS), integroimista korkean läpimenon valintatekniikoihin. Näissä järjestelmissä monoklonaaliset aptameerikokelaiden mikrohelmet voidaan tuottaa ja testata yksilöllisesti aptameerikokelaiden soveltuvuuden arvioimiseksi, mikä auttaa poistamaan stokastiset vaikutukset, jotka ovat yleisiä klassisissa SELEX-tekniikoissa. Tällaisten tekniikoiden avulla on saatu aikaan aptameereja, joiden sitoutumisaffiniteetti on 1000 kertaa suurempi kuin perinteisen SELEX-menetelmän avulla. Toinen kehittyvä tekniikka on fluoresenssiaktivoitu pisaralajittelu (FADS), jossa valinta ei perustu sitoutumiseen, mikä mahdollistaa aptameerien ominaisuuksien, kuten fluoresenssin tai entsymaattisen aktiivisuuden, suuremman monimuotoisuuden kehittymisen. Tässä katsauksessa tarkastelemme esimerkkejä ja sovelluksia oligonukleotidifunktionalisoitujen mikrohelmien käytöstä aptameerien valinnassa ja pohdimme aptameeritutkimuksen uusia mahdollisuuksia.

**Tulos**

Oligonukleotidifunktionalisoidut mikrohelmet: Välttämättömät työkalut korkean läpimenon Aptamer-valintaan

**Esimerkki 1.26**

Suu- ja sorkkatautiviruksen (FMDV) sitkeästi tartuttamilta naudoilta post mortem saadut kudokset analysoitiin FMDV:n kudosspesifisen lokalisoitumisen ja valittujen immunoregulatiivisten sytokiinien osittaisten transkriptomiprofiilien kuvaamiseksi. Analysoitaessa 28 erillistä anatomista kohtaa 21:stä suu- ja sorkkatautiviruksen serotyypillä A, O tai SAT2 tartunnan saaneesta härästä, viruksen kokonaismääritys oli suurimmillaan selkäpuolen nenänielussa (80,95 %) ja selkäpuolen pehmeässä suulakihalkiossa (71,43 %). FMDV:tä havaittiin harvemmin kurkunpään limakalvokudoksissa, suunielun limakalvoilla ja nielua tyhjentävissä imusolmukkeissa. Immunomikroskopia osoitti, että pysyvästi infektoituneissa limakalvokudoksissa FMDV-antigeenejä oli harvoin havaittavissa muutamissa epiteelisoluissa limakalvoon liittyvän imukudoksen (MALT) alueilla. Sitkeästi infektoituneiden nielukudosten transkriptomianalyysi qRT-PCR:llä 14 sytokiinigeenin osalta osoitti yleisen suuntauksen mRNA-tasojen vähenemisestä verrattuna infektoimattomiin kontrollieläimiin. Vaikka tilastollisesti merkitseviä eroja ei havaittu, suurin suhteellisen ilmentymisen suppressio (RE) todettiin IP-10:n (RE = 0,198), IFN-β:n (RE = 0,269), IL-12:n (RE = 0,275) ja IL-2:n (RE = 0,312) osalta. Lisääntynyt suhteellinen ilmentyminen havaittiin IL-6:n osalta (RE = 2,065). Kaiken kaikkiaan nämä tiedot osoittavat, että naudan FMDV-kantajatilan aikana viruksen persistenssi liittyy ylähengitysteiden nenänielun epiteelisoluihin ja useiden immunoregulatoristen sytokiinien mRNA-tasojen alenemiseen infektoituneissa kudoksissa.

**Tulos**

Jatkuva suu- ja sorkkatautiviruksen aiheuttama infektio nautojen nenänielussa; kudosspesifinen jakautuminen ja paikallinen sytokiinien ilmentyminen.

**Esimerkki 1.27**

Syklofiliini A on viime aikoina herättänyt huomiota ihmisen immuunikatoviruksen tyypin 1 (HIV-1) vastaisten lääkkeiden uutena kohteena. Toistaiseksi ei kuitenkaan ole hyväksytty yhtään HIV-1-infektion vastaista lääkettä, jolla olisi tämä vaikutusmekanismi. Löytääksemme uusia tehokkaita inhibiittorikandidaatteja teimme in silico -seulonnan kaupallisesta tietokannasta, joka sisältää yli 1300 lääkkeen kaltaista yhdistettä, reseptoripohjaisten telakointitutkimusten avulla. Telakointitutkimuksista valitut ehdokkaat testattiin sen jälkeen biologisilla testeillä HIV:n vastaisten vaikutusten arvioimiseksi. Tämän tuloksena kaksi yhdistettä tunnistettiin aktiivisimmiksi. Molemmilla yhdisteillä oli HIV:n vastainen aktiivisuus viruksen replikaatiota vastaan alhaisella pitoisuudella ja suhteellisen alhainen sytotoksisuus tehokkaassa pitoisuudessa, joka esti viruksen kasvun 50 prosentilla.

**Tulos**

Syklofiliini A:n kanssa vuorovaikutuksessa olevien uusien pienimolekyylipainoisten HIV-1-estäjien löytäminen in silico -seulonnan ja biologisten arviointien avulla.

**Esimerkki 1.28**

Herpes simplex -virus tyyppi 1 (HSV1), kun sitä esiintyy apolipoproteiini E -geenin (APOE) tyypin 4 alleelin kantajien aivoissa, on epäilty merkittäväksi tekijäksi Alzheimerin taudissa (AD). On ehdotettu, että virus on normaalisti latentti monissa iäkkäiden aivoissa, mutta aktivoituu ajoittain uudelleen (kuten ääreishermostossa) tietyissä olosuhteissa, esimerkiksi stressissä, immunosuppressiossa ja perifeerisessä infektiossa, aiheuttaen kumulatiivisia vaurioita ja lopulta Alzheimerin taudin kehittymisen. Erilaisilla lähestymistavoilla on saatu tietoja, jotka tukevat suoraan tai epäsuorasti näitä käsitteitä. Useat tutkimukset ovat vahvistaneet HSV1-DNA:n esiintymisen ihmisaivoissa ja HSV1-APOE-ε4-yhteyden Alzheimerin tautiin. Lisäksi HSV1-tartunnan saaneilla APOE-transgeenisillä hiirillä tehdyt tutkimukset ovat osoittaneet, että APOE-e4-eläimillä on suurempi potentiaali viruksen aiheuttamille vaurioille. Reaktivoitunut HSV1 voi aiheuttaa suoria ja tulehduksellisia vaurioita, joihin todennäköisesti liittyy beeta-amyloidin (Aβ) ja AD:n kaltaisten tau-muutosten (P-tau) lisääntynyt muodostuminen, joita on havaittu esiintyvän HSV1-infektoituneissa soluviljelmissä. HSV1:n osuutta Alzheimerin tautiin lisää se, että HSV1:n DNA:ta on erityisesti paikallistettu Alzheimerin taudin amyloidiplakeihin. Muita infektion merkityksellisiä, haitallisia vaikutuksia ovat seuraavat: HSV1:n ja amyloidin esiaste-proteiinin (APP) väliset dynaamiset vuorovaikutukset, jotka vaikuttaisivat sekä viruksen että APP:n kulkeutumiseen; toll-tyyppisten reseptorien (TLR) induktio HSV1-infektoituneissa astrosyyttiviljelmissä, mikä on yhdistetty viruksen todennäköisiin reaktivoitumisvaikutuksiin aivoissa. Useat epidemiologiset tutkimukset ovat serologisten tietojen perusteella osoittaneet, että systeemisten infektioiden ja kognitiivisen heikkenemisen välillä on yhteys, ja erityisesti HSV1:llä on ollut yhteys. Myös geneettisissä tutkimuksissa on yhdistetty erilaisia Alzheimerin taudin reittejä HSV1-infektion yhteydessä esiintyviin reitteihin. Mitä tulee viruslääkkeiden mahdolliseen käyttöön Alzheimerin tautia sairastavien potilaiden hoidossa, asikloviiri (ACV) vähentää tehokkaasti HSV1:n aiheuttamia AD:n kaltaisia muutoksia soluviljelmissä, ja valasykloviiri, ACV:n bioaktiivinen muoto, saattaa olla tehokkaimmillaan, jos se yhdistetään eri mekanismilla vaikuttavaan viruslääkkeeseen, kuten laskimonsisäiseen immunoglobuliiniin (IVIG).

**Tulos**

Herpes simplex -virus tyyppi 1 ja Alzheimerin tauti: yhä enemmän näyttöä viruksen merkittävästä roolista.

**Esimerkki 1.29**

Aikuisen urosrotan (Wistar) selkäytimen dorsaalisen funiculuksen osaa käsiteltiin I tunnin ajan thoracolumbaalisella tasolla juoksuttamalla kuumaa vettä noin 48-50 ~ C:n lämpötilassa halkaisijaltaan 2 mm:n polyeteeniputken läpi, joka oli kosketuksissa kovakalvon kanssa. Eläimet kiinnitettiin 1-4 viikkoa myöhemmin, ja selkäydin tutkittiin valo- ja elektronimikroskoopilla. Vaurioitunut alue dorsaalisessa funiculuksessa oli noin i mm pitkä ja alle 1 mm leveä dorsaalipinnalla, ja sen syvyys vaihteli 0,4-0,7 mm:n välillä. Kolmen päivän kuluessa hoidosta lähes kaikki myeliinitupet olivat hajonneet vaurioituneella alueella, jolloin aksonit jäivät paljaiksi, ja samaan aikaan astrosyyttipääte glian rajakalvolla oli turvonnut ja osittain tuhoutunut. Lähes kaikki denudoituneet aksonit säilyivät ehjinä, eikä niissä ollut havaittavia morfologisia muutoksia. Vauriossa oli merkkejä kohtalaisesta vasogeenisesta ödeemasta, mutta vain vähäisiä merkkejä verenvuodosta. Seitsemän päivää hoidon jälkeen vaurioituneiden aksonien välissä oli monia epäkypsiä Schwannin soluja mutta ei oligodendrosyyttejä. Kahteen viikkoon mennessä monet denudoituneista aksoneista olivat uudelleen myelinisoituneet, ja neljään viikkoon mennessä lähes kaikki piaalisten ja per;verisuonipintojen lähellä sijaitsevat aksonit olivat uudelleen myelinisoituneet Schwannin soluilla, kun taas suurin osa oligodendrosyyttien uudelleen myelinisoimista oli tapahtunut oligodendrosyyttien avulla syvillä ja marginaalisilla vyöhykkeillä, jotka rajoittuvat ehjiin alueisiin nähden. Pitkittäisleikkaukset osoittivat, että Ranvierin solmupisteissä PNS-tyyppiset myeliinitupet olivat joko ehjiä tai vasta muodostuneita CNS-tyyppisiä myeliinitupia. Tyypillistä glian rajakalvoa ei muodostunut uudelleen piaalipinnan alle, mutta PNS- ja CNS-tyyppisten kuitualueiden välissä oli huomaamaton sellainen.

**Tulos**

Demyelinaatio ja remyelinaatio rotan selkäytimen dorsaalisessa funiculuksessa lämpövamman jälkeen.

**Esimerkki 1.30**

Kissan coronavirus (FCoV) on yleinen sisätiloissa ryhmissä elävien kissojen keskuudessa. Noin 10 %:lla tartunnan saaneista kissoista esiintyy mahdollisesti kuolemaan johtava sairaus, kissan tarttuva vatsakalvotulehdus (FIP). Virus tarttuu ulosteen kautta ja suun kautta. Mutian® Xraphconn (Mutian X) on tuote, jota markkinoidaan FIP:tä sairastavien kissojen hoitoon, mutta sitä käytetään myös viruksen irtoamisen estämiseen, vaikka sen käytöstä tähän tarkoitukseen ei ole olemassa selkeitä ohjeita. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli määrittää vähimmäisannos ja hoidon kesto, jotka ovat tarpeen viruksen poistamiseksi oireettomien, virusta irtoavien kissojen ulosteesta. Viidessä usean kissan taloudessa 29 kissalle, jotka olivat luonnostaan saaneet FCoV-tartunnan ja joiden ulosteessa virus oli aktiivisesti irtoamassa, annettiin Mutian X -tabletteja. Viruksen irtoamista seurattiin käyttämällä käänteistranskriptiivistä kvantitatiivista polymeraasiketjureaktiota (RT-qPCR), jonka herkkyyden varmistamiseksi ulosteen inhibiittoreita valvottiin. Suun kautta annettu Mutian X poisti viruksen 29 kissalta; neljä kissaa tarvitsi tosin toistuvan kuurin lopettaakseen lopullisesti viruksen irtoamisen. Optimaaliseksi hoitoprotokollaksi osoittautui annos 4 mg/kg q24 h neljän päivän ajan: 2 mg/kg puhdisti vain 80 prosenttia kissoista. Jälkihoito herkällä RT-qPCR-testillä oli välttämätöntä sen varmistamiseksi, että virus oli hävinnyt, sillä jos edes yhtä kissaa ei onnistuttu hävittämään, se voi johtaa muiden kissojen uudelleeninfektioon. Kissojen viruksen irtoamista ennen hoitoa koskevat tiedot tarjosivat takautuvan kontrollin: huomattavasti useampi kissa lopetti viruksen irtoamisen Mutian X:n jälkeen kuin toipui tartunnasta kontrollijakson aikana (p < .00001). Tämä on ensimmäinen raportti onnistuneesta ulosteen kautta tapahtuvan FCoV:n irtoamisen lopettamisesta kroonisesti infektoituneilta kissoilta.

**Tulos**

Suun kautta annettu Mutian®X lopetti kissojen ulosteperäisen koronaviruksen irtoamisen luonnollisesti tartunnan saaneilla kissoilla.

**Esimerkki 1.31**

Useat tutkimukset ovat osoittaneet, että pentoksifylliinillä on laaja-alaista viruslääkkeiden tehoa useita RNA- ja DNA-viruksia vastaan. Sen kykyä estää Japanin enkefaliittiviruksen (JEV) replikaatiota ei kuitenkaan ole vielä tutkittu. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia pentoksifylliinin antiviraalista aktiivisuutta JEV:tä vastaan in vitro ja in vivo. Pentoksifylliinin aktiivisuutta JEV:tä vastaan arvioitiin in vitro sytopaattisen vaikutuksen esto- ja plakkien pienentämismäärityksillä. Pentoksifylliini pystyi estämään JEV:n replikaatiota annosriippuvaisesti 50 prosentin estopitoisuudella (IC 50 ), joka oli 50,3 g/ml (0,00018 M), ja terapeuttisella indeksillä (TI), joka oli 10. Kokeet, joissa tutkittiin pentoksifyliinin antiviraalisen vaikutuksen mekanismia käyttämällä viruksen mRNA:n in vitro-translaatiota, osoittivat, että lääke ei häirinnyt varhaista eikä myöhäistä proteiinisynteesiä, vaan vaikutti todennäköisesti viruksen kokoamiseen ja/tai vapautumiseen. Lisäksi in vivo -tutkimus osoitti, että pentoksifylliini pitoisuuksina 100 mg/kg ja 200 mg/kg ruumiinpainoa pystyi suojaamaan täysin hiiriä, joille annettiin 50 × 50 % tappava annos (LD 50 ) JEV:tä.

**Tulos**

Pentoksifylliini estää japanilaisen enkefaliittiviruksen replikaatiota: vertaileva tutkimus ribaviriinin kanssa

**Esimerkki 1.32**

Influenssan torjumiseksi on ensinnäkin tärkeää löytää todelliset viruksen siirtovälineet. Ilmakehän aerosolihiukkaset ovat oletettavasti yksi näistä välineistä. Tässä tutkimuksessa tutkittiin kolmea tyypillistä Shanghaissa hengitettyä ilmakehän hiukkasta synkrotronipohjaisella transmissioröntgenmikroskoopilla (TXM). Hiukkasten kolmiulotteinen mikrorakenne paljastaa, että niissä on paljon huokosia, erityisesti hiilenpolttokärpäshiukkasissa, jotka voivat olla mahdollisia viruksen kantajia. Hiukkaset voivat keveytensä ansiosta kulkeutua pitkien matkojen päähän ja aiheuttaa kaukoinfektioita. Ehdotamme tilaksi pisaran yhdistämistä aerosolitilaan. Tällä moodilla voidaan selittää maailmanlaajuisten ja pandemisten influenssojen leviäminen ja tartunnat kaukana asutuksesta sijaitsevien lintujen ja rannikkokaupungeissa asuvien siipikarjan tai ihmisten välillä.

**Tulos**

TXM-menetelmällä havaittu ilmakehän hiukkasten mikrorakenne ja uusi influenssaviruksen leviämistapa.

**Esimerkki 1.33**

Herpes simplex -viruksen (HSV) aiheuttama hiirten infektio voi aiheuttaa virusenkefaliitin. Käyttämällä kahden fluorokromin immunofluoresenssia tämä tutkimus osoittaa, että vaikka HSV-enkefaliittiä sairastavien hiirten aivorungossa on laaja myeliinikato ja nekroosi, vain jotkut oligodendrosyytit, astrosyytit ja mikrogliasolut ovat infektoituneita. CD4- tai CD8-ekspressiivisiä T-soluja ja suuri määrä CD4+, F4/80+-makrofageja on perivaskulaarisissa infiltraateissa lähellä HSV-infektoituneita soluja ja kosketuksissa niihin alueilla, joilla on massiivinen myeliinikato. Nämä havainnot viittaavat siihen, että HSV-1-infektion aikana aivoihin tunkeutuvien immuunisolujen infiltraatio voi aiheuttaa yhtä paljon vahinkoa kuin itse virus. 0165-5728/89/$03.50

**Tulos**

Immuuni-T-solujen soluttautuminen herpes simplex -viruksen aiheuttamaa aivotulehdusta sairastavien hiirten aivoihin.

**Esimerkki 1.34**

Taustaa: Trichobilharzia regenti viettää osan selkärangattomien sisäisestä elinkaarestaan keskushermostossa. Loisten vaellukseen voi liittyä neuromotorisia häiriöitä tai halvaantumista luonnollisissa lopullisissa isännissä (sorsat) ja jopa laboratorionisäkkäissä. Sorkkariaseita pystyy myös tunkeutumaan ihmisen ihoon ja aiheuttamaan sorkkatauti-ihottumaa. Vaikka solu- ja vasta-ainevasteet cercariae- ja migraatiokariesta vastaan on tutkittu hiirillä, lintujen immuunireaktioista tiedetään vain vähän. Tässä tutkimuksessa kuvataan ensin vasta-ainevasteen dynamiikkaa tartunnan saaneilla ankoilla ja tunnistetaan usein tunnistettuja antigeenejä, jotka voivat toimia T. regenti -tartunnan diagnostisina merkkiaineina. Menetelmät: 35 kotisorsan ja 10 sinisorsan ryhmät altistettiin eri annoksille T. regenti cercariae -bakteeria. Seerumit kerättiin ennalta määritellyin väliajoin ja testattiin ELISA-testillä spesifisten sorkkatautivastaisten IgY- ja IgM-arvojen esiintymisen varalta. Vasta-aineiden tunnistamat antigeenit tunnistettiin sercariae- ja skistosomula-antigeenien Western bloteista. Soveltuvuutta immunodiagnostiikassa arvioitiin tilastollisesti ilmaisemalla spesifisyys- ja herkkyysarvot yksittäisille antigeeneille. Tulokset: ELISA-testissä sercaria-vastaisten IgM-tasojen huippu saavutettiin 15. päivänä pi. Infektion myöhempiin vaiheisiin liittyvää IgY:n lisääntynyttä tuotantoa havaittiin useimmilla yksilöillä 20 dpi:n tienoilla ja se huipentui 30 dpi:n tienoilla. Vasta-ainevasteen ajallinen kulku ei eronnut koeryhmien välillä, vaihtelua havaittiin ainoastaan spesifisen IgY:n tasoissa, jotka riippuivat pikemminkin ankkojen iästä tartuntahetkellä kuin tartunta-annoksesta. Western blotissa tartunnan saaneiden ankkojen IgY-antigeenit tunnistivat 40 sercaria- ja 7 skistosomulaarista antigeenia. Näistä 4 sercaria-antigeenia, joiden koon ollessa 50, 47, 32 ja 19 kDa, antoivat herkimmät ja spesifisimmät reaktiot. Päätelmät: Sercariae- ja skistosomula-antigeenit aiheuttivat ankoissa erilaisen vasta-ainevasteen, joka korreloi positiivisesti eläinten iän kanssa tartuntahetkellä. IgY tunnisti useita sercariae-antigeenejä ja vähemmän skistosomula-antigeenejä, ja niiden herkkyys ja spesifisyys vaihteli; vain muutama näytti olevan yhteinen molemmille vaiheille. Neljää niistä pidettiin lupaavimpina ehdokkaina immunodiagnostiikkaan.

**Tulos**

Lopullisten isäntien vasta-ainevaste neuropatogeenisen schistosome Trichobilharzia regenti -bakteerin kahden elinvaiheen antigeenejä vastaan.

**Esimerkki 1.35**

Sian deltacoronavirus (PDCoV), joka kuuluu Deltacoronavirus-sukuun, on uusi sian enteropatogeeninen koronavirus (CoV). Vaikka erinomaiset ponnistelut ovat johtaneet alfakoronaviruksen ja betakoronaviruksen reseptorien tunnistamiseen, Deltacoronaviruksen reseptori on epäselvä. Tässä vertailimme useiden edustavien CoV:ien aminohapposekvenssejä. Fylogeneettinen analyysi osoitti, että PDCoV:n piikkiproteiini (S) oli lähellä klusteria, joka sisälsi tarttuvan gastroenteriittiviruksen (TGEV), joka käyttää sikojen aminopeptidaasi N:ää (pAPN) toiminnallisena reseptorina. PAPN:n ekstooppinen ekspressio ei-herkissä BHK-21-soluissa teki niistä herkkiä PDCoV:lle. Nämä tulokset osoittavat, että pAPN voi olla toimiva reseptori PDCoV-infektiota varten. Käsittely APN-spesifisellä vasta-aineella ja inhibiittoreilla ei kuitenkaan estänyt täysin PDCoV-infektiota IPI-2I-sian suoliepiteelisoluissa. pAPN:n tyrmäys IPI-2I-soluissa esti täysin TGEV-infektion, mutta vähensi vain hieman PDCoV-infektiota. PAPN:n homologinen mallintaminen PDCoV:n tai TGEV:n S1 C-terminaalisen domeenin (S1-CTD) kanssa osoitti, että TGEV:n S1-CTD omaksui β-käänteitä (β1-β2 ja β3-β4), jotka muodostavat β-piipun kärjen, tunnistamaan pAPN:n. Kuitenkin vain PDCoV S1-CTD:n β1-β2-käännöksen ylimmät jäännökset pystyivät tukemaan vuorovaikutusta pAPN:n kanssa, ja β3-β4-käännös ei saanut yhteyttä pAPN:ään. Keskustelemme myös PDCoV S1-CTD:n evoluutiosta ja vaihtelusta rakennetietojen perusteella, mikä antaa vihjeitä selittää pAPN:n käyttöä PDCoV:n toimesta. Kaiken kaikkiaan tässä esitetyt tulokset paljastavat, että pAPN ei todennäköisesti ole kriittinen toiminnallinen reseptori PDCoV:lle, vaikka se osallistuukin PDCoV-infektioon.

**Tulos**

Sian aminopeptidaasi N:n osuus sikojen deltacoronavirusinfektiossa

**Esimerkki 1.36**

Hantavirukset ovat jyrsijöiden välittämiä viruksia, jotka voivat aiheuttaa hantaviruksen aiheuttaman sydän- ja keuhko-oireyhtymän (HCPS) Amerikassa ja hemorragisen kuumeen, johon liittyy munuaisoireyhtymä (HFRS) Euraasiassa. Yhdessä nämä virukset ovat viime vuosina aiheuttaneet vuosittain noin 200 000 ihmistartuntaa maailmanlaajuisesti, ja HFRS:n kuolemantapausten osuus on 5-15 prosenttia ja HCPS:n jopa 40 prosenttia. HFRS:ään tai HCPS:ään ei ole tällä hetkellä saatavilla tehokasta hoitoa. Ainoastaan kokonaisen viruksen inaktivoidut rokotteet HTNV:tä tai SEOV:tä vastaan on hyväksytty käytettäväksi Korean tasavallassa ja Kiinassa, mutta näiden rokotteiden suojaava teho on epävarma. Suurelta osin hantavirukselta suojautumisen immunologisia korrelaatioita ei tunneta. Tässä katsauksessa esitimme yhteenvedon neljän HFRS-virusta aiheuttavan viruksen, HTNV:n, SEOV:n, PUUV:n ja DOBV:n, sekä kahden HCPS-virusta aiheuttavan viruksen, ANDV:n ja SNV:n, epidemiologiasta, virologiasta ja patogeneesistä, minkä jälkeen keskustelimme näitä tauteja vastaan käytettäviä rokotteita ja terapeuttisia lääkkeitä koskevasta nykyisestä tiedosta. Uskomme, että nämä tiedot valaisevat uusien rokotteiden ja hoitojen järkevää kehittämistä.

**Tulos**

Rokotteet ja terapiat hantaviruksia vastaan

**Esimerkki 1.37**

Rotavirusinfektio on merkittävä syy vakavaan nestehukkaa aiheuttavaan ripuliin alle 5-vuotiailla pikkulapsilla ja erityisesti immuunipuutteisilla potilailla potilaiden iästä riippumatta. Vaikka rokotteita on kehitetty, viruslääkehoito on tärkeä lisä, jota ei voida korvata. Koska erityistä hyväksyttyä hoitoa ei ole, on kiireesti edistettävä infektion biologian ymmärtämistä, lääkekohteiden tunnistamista ja tehokkaiden viruslääkehoitojen lopullista kehittämistä. PI3K-Akt-mTOR-signalointireitillä on tärkeä rooli monien virusten infektiokulun säätelyssä. Tässä tutkimuksessa olemme tutkineet PI3K-Akt-mTOR-signalointireitin vaikutuksia rotavirusinfektioon käyttämällä sekä tavanomaisia soluviljelymalleja että ihmisen primaaristen suolisto-organoidien 3D-mallia. Havaitsimme, että PI3K-Akt-mTOR-signalointi on olennaista rotavirusinfektion ylläpitämisessä. Näin ollen tämän reitin keskeisten elementtien, kuten PI3K:n, mTOR:n ja 4E-BP1:n, estäminen on johtanut voimakkaaseen rotaviruslääkkeiden vastaiseen toimintaan. On tärkeää, että kliinisesti käytetty mTOR:n estäjä, rapamysiini, esti tehokkaasti sekä kokeellisia että potilaista peräisin olevia rotaviruskantoja. Tähän vaikutukseen liittyy 4E-BP1:n välittämä autofagian induktio, joka puolestaan vaikuttaa rotaviruksia vastaan. Nämä tulokset paljastivat uusia näkemyksiä rotaviruksen ja isännän välisestä vuorovaikutuksesta ja tarjosivat uusia väyliä viruslääkkeiden kehittämiseen.

**Tulos**

PI3K-Akt-mTOR-akseli ylläpitää rotavirusinfektiota 4E-BP1-välitteisen autofagiapolun kautta ja on viruksenvastainen kohde.

**Esimerkki 1.38**

Solunsisäisiä tapahtumia lymfosyyttisen koriomeningiittiviruksen (LCMV) glykoproteiinien synteesissä, glykosylaatiossa ja kuljetuksessa on tutkittu. Olemme osoittaneet N-glykanaasin pilkkomisen avulla, että LCMV-kanta Arm-4:llä on viisi oligosakkaridia GP-1:ssä ja kaksi GP-2:ssa. Pulssi-chase-leimauskokeilla sellaisten lääkkeiden läsnäollessa, jotka estävät N-sidoksissa olevien oligosakkaridien lisäystä ja prosessointia, osoitamme, että korkean mannoosipitoisuuden omaavien esiaste-oligosakkaridien lisäys on välttämätöntä viruksen GP-C-glykoproteiinin kulkeutumiselle ja pilkkoutumiselle. Lisäksi tunikamysiinin läsnä ollessa, joka estää näiden mannoosirikkaiden sivuketjujen en bloc -lisäyksen, viruksen nuppuuntuminen väheni huomattavasti ja infektiivisten virionien määrä supernatanttiympäristössä väheni yli lOOO-kertaiseksi. Inkubointi kastantospermiinin läsnäollessa, joka sallii oligomannosyylirikkaiden ketjujen lisäämisen mutta estää jatkoprosessoinnin, palautti GP-C:n kuljetuksen ja pilkkomisen sekä virionien kypsymisen. Lämpötilablokkikokeissa on todettu, että GP-C-oligosakkaridien kypsyminen endoglykosidaasi H:lle resistenttiin muotoon edeltää pilkkoutumista GP-1:ksi ja GP-2:ksi. Jälkimmäinen prosessi tapahtuu todennäköisimmin Golgin tai post-Golgin osastossa. o 1990AcademicPress, IW. ' Nykyinen osoite:

**Tulos**

Lymfosyyttisen koreomeningiittiviruksen glykoproteiinien translaation jälkeinen prosessointi

**Esimerkki 1.39**

Dendriittiset solut (DC) ovat ratkaisevan tärkeitä integroidun immuunivasteen kannalta, ja ne toimivat keskeisenä linkkinä immuunijärjestelmän synnynnäisen ja adaptiivisen osan välillä. Aivojen DC:t toimivat vakaassa tilassa vartijoina, jotka ottavat jatkuvasti näytteitä paikallisesta ympäristöstään. Ne jakavat tämän tehtävän makrofagien kanssa, jotka ovat peräisin samasta hemopoieettisesta (luuytimestä peräisin olevasta) esiasteesta, ja parenkymaalisten mikroglioiden kanssa, jotka ovat peräisin ainutlaatuisesta muusta kuin hemopoieettisesta alkuperästä. Vaikka useat solut voivat toimia antigeenin esittelevinä soluina (APC), dendriittisolut esittelevät sekä vieraita että omia proteiineja naiiveille T-soluille, jotka puolestaan suorittavat efektoritoimintoja, joiden tarkoituksena on suojella tai tuhota. Sopeutumisvasteen aktivoituminen on kriittinen vaihe vamman tai infektion ratkaisemisessa, ja se on eloonjäämisen kannalta ratkaisevan tärkeää. Tässä katsauksessa tarkastelemme DC-solujen kriittisiä rooleja aivojen vasteessa neuroinflammatorisiin sairauksiin ja painotamme sitä, miten aivojen mikroympäristö vaikuttaa näihin toimiin.

**Tulos**

Immuunien heterogeenisuus neuroinflammaatiossa: Dendriittiset solut aivoissa.

**Esimerkki 1.40**

Taustaa: Se on uuden koronaviruksen aiheuttama hengitystiesairaus, joka tunnistettiin vuonna 2012 Saudi-Arabiassa. Siihen liittyy huomattava kuolleisuus ja sairastavuus. Selvitimme Lähi-idän hengitystieoireyhtymä-koronavirus (MERS-CoV) -infektioon liittyviä tekijöitä epäillyistä tapauksista, jotka esitettiin ylähengitystieinfektion merkkien ja oireiden tai virukselle altistumisen vuoksi. Tarkastelimme myös lääkityshistorian vaikutusta viruksen tarttumiseen. Menetelmä: Mukaan otettiin koehenkilöt, joilla epäiltiin MERS-CoV-infektiota, ja vahvistetut MERS-infektiotapaukset. Tutkittavat suljettiin pois, jos puuttuvia tietoja oli, jotka estävät lopullisen analyysin. Demografisten tietojen raportointiin käytettiin kuvailevia tilastoja. Prosentteja ja frekvenssejä käytettiin kategoristen muuttujien tiivistämiseen, kun taas keskiarvot ja keskihajonnat laskettiin jatkuville muuttujille. Logistista regressiota käytettiin MERS-CoV-infektion riskin arvioimiseksi epäiltyjen tapausten keskuudessa. Arvoa p < 0,05 pidettiin tilastollisesti merkitsevänä. Tulokset: Epäiltyjä tapauksia tunnistettiin yhteensä 16 189. Täydelliset tiedot analysoitiin 3154 tapauksen osalta, jotta voitiin arvioida tekijöitä, jotka ovat riippumattomasti yhteydessä MERS-CoV-infektioon. MERS-CoV-infektio oli yhteydessä ikään (mukautettu kertoimen suhde [AOR] = 1,06; 95 % CI [1,02-1,098], P-arvo = 0,004), miehen sukupuoleen (AOR = 1,617; 95 % CI [1,365-1,77], P-arvo < 0,001) ja diabetekseen (AOR = 1,68; 95 % CI [1,346-1,848], P-arvo = 0,002). Muiden liitännäissairauksien kanssa ei ollut merkittävää yhteyttä. Lääkehistoria ei liittynyt infektion todennäköisyyden lisääntymiseen tai vähenemiseen. Päätelmät: MERS-Cov-infektio on yleisempi miehillä, korkean iän omaavilla ja diabeetikoilla. Mikään lääkitys ei liittynyt infektion todennäköisyyden lisääntymiseen tai vähenemiseen. Tämän vuoksi on tärkeää keskittyä seulontaan ja toteamiseen tässä potilasryhmässä.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymää sairastavien potilaiden tekijöiden tunnistaminen ja ennaltaehkäisevät hoitokohteet.

**Esimerkki 1.41**

Taustaa: IBV on Coronaviridae-heimoon kuuluva gammakoronavirus, joka aiheuttaa taloudellisesti merkittävän siipikarjatauti. IBV:n piikkiglykoproteiini on välttämätön isäntäsoluun kiinnittymiselle, neutraloinnille ja osallistuu suojaavan immuniteetin induktioon. IBV QX:n kaltaisten ja Massachusettsin kantojen piikkigeenin aiemmin saadut sekvenssitiedot analysoitiin bioinformatiikan avulla. Tulokset: Mahdollisten fosforylaatiokohtien analyysissä Ser542- ja Ser563-kohtia ei ollut Massachusetts-kannoissa, kun taas QX-tyyppisissä isolaateissa ei ollut Ser534-kohtaa. Massachusettsin ja QX:n kaltaisissa kannoissa oli erilaisia pilkkoutumiskohtien motiiveja. N-glykosylaatiokohdat ASN-XAA-SER/THR-55, 147, 200 ja 545 esiintyivät lisäksi QX:n kaltaisissa kannoissa. Massachusetts-kantojen leusiinirikkaat toistuvuusalueet koostuivat 63-69 aminohapon pituisista jaksoista, kun taas QX:n kaltaisissa kannoissa niiden pituus oli 59 aminohappoa. QX:n kaltaisessa kannassa CK/SWE/082066/2010 havaittiin ylimääräinen palmitoylaatiokohta. Primäärirakennetiedot osoittivat eroja molempien genotyyppien fysikaalisissa ominaisuuksissa ja hydrofobisessa luonteessa. Sekundäärirakenteiden vertailu ei paljastanut uusia rakenteellisia alueita genotyyppivarianttien välillä. Lintujen ja nisäkkäiden koronaviruksiin perustuvat fylogeneettiset analyysit osoittivat analysoidun IBV:n olevan läheistä sukua kalkkunan koronaviruksille ja etäsukua thrush- ja munia-koronaviruksille. Päätelmät: Tutkimus osoitti, että IBV:n Massachusettsin ja QX:n kaltaisten varianttien piikkiglykoproteiini on molekyylisesti erilainen ja että tämä voi heijastua eroihin näiden virusten käyttäytymisessä in vivo.

**Tulos**

Bioinformatiikka ja evolutiivinen näkemys QX:n kaltaisten ja Massachusettsin tarttuvan keuhkoputkentulehdusviruksen kantojen piikkiglykoproteiinigeenistä.

**Esimerkki 1.42**

Nykyinen Ebola-viruksen taudinpurkaus on tuonut esiin Ebola-viruksen virologian moniin näkökohtiin, kuten tartuntareitteihin, liittyvät epävarmuustekijät. Tiedeyhteisöllä oli johtava rooli taudinpurkauksen aikana - mahdollisesti suurimman laatuaan - sillä monia ebolaviruksiin liittyviä kysymyksiä on tutkittu vain laboratoriossa. Tutkijat tarjosivat kliinikoille, kansanterveysviranomaisille, poliittisille päättäjille ja maallikoille korvaamattoman arvokkaan resurssin, jonka avulla he voivat ymmärtää ebolaviruksen taudin etenemistä ja jatkuvaa taudinpurkausta. Kaikki tieteellinen viestintä ei kuitenkaan ollut täsmällistä tai tehokasta. Epidemian puhkeamisen aikana julkaistiin useita artikkeleita, jotka sisälsivät mahdollisesti harhaanjohtavaa tieteellistä kielenkäyttöä, mikä johti tiedotusvälineiden ylireagointiin ja vaaransi mahdollisesti valmiusvalmiuden ja poliittiset päätökset kriittisissä kohdissa. Käytämme tässä artikkeleita, joissa ilmoitettiin Ebola-viruksen mahdollisesta leviämisestä ilmateitse, tapaustutkimuksena perustutkimuksen epätarkasta raportoinnista, ja annamme suosituksia taudin tuntemattomista näkökohdista tiedottamisen parantamiseksi kansanterveydellisten kriisien aikana. Tieteellistä perustutkimusta pidetään nykyään olennaisena osana Ebola-viruksen kaltaisten uusien tartuntatautien torjuntaa. Äskettäinen Ebola-epidemia osoittaa kuitenkin, miten tehoton perustieteellinen viestintä voi lietsoa yleisön paniikkia enemmän kuin tarjota hyödyllisiä välineitä vastaajille. Perustieteessä käytetään todennäköisyyksiä ja epävarmuutta, kun taas julkisessa viestinnässä suositaan kategorisempia väitteitä. Tässä keskustelemme tieteellisten tulosten viestinnän etiikasta käyttäen tapaustutkimuksena äskettäistä kiistaa siitä, osoittaako biotieteiden perustutkimus, että Ebola voisi tarttua ilmassa leviävien hengityspisaraydinten välityksellä - mikä tunnetaan yleisesti viruksen "ilmassa leviämisenä". Osoitamme, että tieteelliset tutkimustulokset eivät osoita tätä mahdollisuutta huolimatta populaarissa ja tieteellisessä lehdistössä esitetyistä väitteistä. Tämän jälkeen suosittelemme, että kansanterveydellisten kriisien yhteydessä epävarmoista tieteellisistä tuloksista olisi tiedotettava nöyrästi, korostamalla sitä, mitä ei tiedetä, ja hahmottelemalla selkeästi, millaiset todisteet todistaisivat kiistanalaiset väitteet.

**Tulos**

Ebola-viruksen leviämiseen liittyvistä epävarmuustekijöistä tiedottaminen tehokkaasti

**Esimerkki 1.43**

Tavoite: Kuvata A(H1N1)-influenssaviruksen saaneiden potilaiden rintakehän HRCT-kuvauksissa havaitut seikat. Menetelmät: Analysoimme takautuvasti 71 potilaan (38 naista ja 33 miestä), joilla oli laboratoriokokeilla vahvistettu H1N1-infektio, HRCT-kuvaukset heinäkuun ja syyskuun 2009 välisenä aikana. Kaksi rintakehäradiologia tulkitsi HRCT-kuvaukset itsenäisesti, ja erimielisyystapauksissa päätökset tehtiin konsensuksella. Tulokset: Yleisimmät HRCT-löydökset olivat lasimainen opasiteetti (85 %), konsolidaatio (64 %) tai lasimaisten opasiteetin ja konsolidaation yhdistelmä (58 %). Muita löydöksiä olivat ilmatilan kyhmyt (25 %), keuhkoputkien seinämän paksuuntuminen (25 %), interlobulaarinen väliseinän paksuuntuminen (21 %), crazy-paving-kuvio (15 %), perilobulaarinen kuvio (3 %) ja ilmansulku (3 %). Löydökset olivat usein molemminpuolisia (89 %) ja jakautuivat satunnaisesti (68 %). Jos keuhkopussineste oli havaittu, se oli yleensä minimaalinen. Lymfadenopatiaa ei todettu. Päätelmät: Yleisimmät löydökset olivat lasimainen opasiteetti ja konsolidaatio tai näiden yhdistelmä. Levinneisyys oli yleensä molemminpuolista, eikä aksiaalinen tai kraniokaudaalinen jakauma ollut vallitseva. Vaikka H1N1-infektion tärkeimmät tomografialöydökset ovat epäspesifisiä, on tärkeää tunnistaa tällaiset löydökset, jotta H1N1-virusinfektio voidaan sisällyttää hengitystieoireiden erotusdiagnoosiin. Objetivo: Descrever os aspectos encontrados em TCAR do tórax de pacientes infectados pelo vírus influenza A (H1N1). Menetelmät: Foram analisadas retrospectivamente as TCAR as 71 pacientes (38 femininos e 33 masculinos) com diagnóstico confirmado de influenza A (H1N1) através da identificação laboratorial do vírus, estudados no período entre julho e setembro de 2009. A interpretação das TCAR foi realizada por dois radiologistas torácicos de forma independente, e, in caso de discordância, as decisões foram tomadas por consenso. Tulokset: Yleisimmät TCAR-tutkimukset olivat opacidades em vidro fosco (85 %), consolidação (64 %) tai opacidades em vidro fosco ja consolidação yhdistelmä (58 %). Muita hankittuja tuotteita olivat nódulos do espaço aéreo (25 %), espessamento das paredes brônquicas (25 %), espessamento de septos interlobulares (21 %), padrão de pavimentação em mosaico (15 %), espessamento perilobular (3 %) ja aprisionamento aéreo (3 %). Muutokset olivat usein kahdenvälisiä (89 %), ja niiden jakautuminen ei ollut erityistä (68 %). Havaitut keuhkopussin repeämät olivat yleisesti ottaen vähäisiä. Linfonodomegalioita ei havaittu. Päätelmät: Vallitsevina muutoksina olivat opacidades em vidro fosco, consolidações tai näiden yhdistelmä. Akometimento oli usein molemminpuolinen, eikä se ollut jakautumisen suhteen (aksiaalinen tai kraniokaudaalinen) vallitseva. Apesar de inespecíficos, é importante reconhecer os principais aspectos tomográficos da infecção por influenza A (H1N1) a fim de incluir essa possibilidade no diagnóstico diferencial de sintomas respiratórios. Descritores: Pneumonia viral; Tomografia computadorizada por raios X; Vírus da influenza A subtipo H1N1.

**Tulos**

Influenssa A (H1N1) -keuhkokuume: HRCT-löydökset\* Pneumonia por vírus influenza A (H1N1): aspectos na TCAR

**Esimerkki 1.44**

Kun pahat ihmiset yhdistyvät, hyvien on liityttävä, muuten he kaatuvat yksi kerrallaan, anteeksiantamattomina uhreina halveksuttavassa taistelussa. Tämän luvun tutkiminen antaa sinulle mahdollisuuden: 1. Keskustella terrorismin ja joukkotuhoaseiden määritelmistä ja niiden suhteesta biologisten aineiden laittomaan käyttöön. 2. Luettele kaikki lainsäädännölliset ja hallinnolliset asiakirjat, joissa käsitellään biologisten aineiden laittoman käytön oikeudellisia näkökohtia. 4. Keskustelkaa biologisten tekijöiden kielletyistä käyttötavoista kansainvälisen oikeuden mukaan. 5. Luettele ja keskustele lyhyesti Homeland Securityn presidentin direktiiveistä, joita sovelletaan bioturvallisuuteen ja biopuolustukseen.

**Tulos**

Bioturvallisuuden oikeudelliset näkökohdat

**Esimerkki 1.45**

Taustaa: Arizonassa seurattiin lokakuun 2010 ja helmikuun 2016 välisenä aikana Arizonan ja Meksikon raja-alueella sairaalahoitoon joutuneiden aikuisten vakavia akuutteja hengitystieinfektioita (SARI). SARI-potilaiden, erityisesti ≥ 65-vuotiaiden aikuisten, kuolleisuudesta on vain vähän tarkkoja arvioita. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli laatia SARI-potilaiden kuolleisuusarviot, jotka sisältävät pian sairaalasta kotiutumisen jälkeen tapahtuneet kuolemantapaukset, ja tunnistaa kuolleisuuden riskitekijät. Menetelmät: Tutkimukseen otettiin mukaan vuosina 2010-2014 kahteen valvontasairaalaan otetut potilaat, jotka täyttivät SARI-tapauksen määritelmän. Demografisia tietoja käytettiin SARI-potilaiden yhdistämiseksi Arizonan kuolintodistuksiin. Kuolleisuus laskettiin 30 päivän kuluessa sairaalahoitoon pääsystä, ja riskitekijät tunnistettiin logististen regressiomallien avulla. Tulokset: 258 SARI-potilaasta 47 prosenttia oli naisia, 51 prosenttia valkoihoisia, ei-hispanialaisia ja 39 prosenttia latinalaisamerikkalaisia. Mediaani-ikä oli 63 vuotta (vaihteluväli 19-97 vuotta), ja 80 prosentilla potilaista oli yksi tai useampi ennestään olemassa oleva sairaus; 9 prosenttia kuoli sairaalassa. Kuolleisuus nousi 12 prosenttiin (30/258, 30 prosentin lisäys), kun käytettiin sähköisiä potilastietoja ja 30 päivän aikaväliä sairaalahoidon jälkeen. Ikä ≥ 65 vuotta (OR = 4,0; 95 % CI: 1,6-9,9) ja tehohoitoyksikköön joutuminen (OR = 7,4; 95 % CI: 3,0-17,9) olivat itsenäisesti yhteydessä kuolleisuuteen. Päätelmät: Sähköisen väestörekisterin käyttö lisäsi SARI-kuolleisuusarvioita 30 prosenttia. Nämä havainnot voivat auttaa ohjaamaan ennaltaehkäisy- ja hoitotoimenpiteitä erityisesti riskihenkilöiden kohdalla tässä erittäin nestemäisessä rajaväestössä.

**Tulos**

Kuolleisuusarviot vakaviin akuutteihin hengitystieinfektioihin sairastuneiden aikuispotilaiden keskuudessa kahdessa vartiointisairaalassa Arizonan eteläosassa, Yhdysvalloissa, 2010-2014.

**Esimerkki 1.46**

Ihmis- ja eläinlajien väliset monimutkaiset suhteet ovat jatkuvasti kehittyneet ihmislajin syntymisen jälkeen, ja ne ovat johtaneet ihmisen ja eläimen väliseen rajapintaan, joka on edistänyt lukuisten tarttuvien taudinaiheuttajien lajirajat ylittävää siirtymistä, syntymistä ja lopulta kehittymistä. Huomionarvoista on, että suurin osa ihmisen ja eläimen rajapinnan ominaisuuksista - sellaisena kuin me sen nykyään tunnemme - on vakiintunut jo kauan ennen lajimme esihistoriallisen kehityksen loppua, ja ne ovat muovautuneet hellittämättä koko lajimme historian ajan. Nykyaikaiseen ihmisväestöön maailmanlaajuisesti vaikuttavat muutokset sekä niiden dramaattinen vaikutus globaaliin ympäristöön ovat viime aikoina vieneet kesyyntymisen, maatalouden, kaupungistumisen, teollistumisen ja kolonisaation ennennäkemättömälle tasolle. Tämä on luonut ainutlaatuisen maailmanlaajuisen monitahoisen ihmisen ja eläimen rajapinnan, johon liittyy merkittävä epidemiologinen murros, johon liittyy uusien ja esiin nousevien tartuntatautien odottamaton lisääntyminen. Tärkeää on, että näitä kehityssuuntia seuraa pitkälti samanaikaisesti lääketieteellinen, teknologinen ja tieteellinen kehitys, jota patogeenien vastaiset loputtomat taistelut jatkuvasti vauhdittavat. Ihmisen ja eläimen välinen rajapinta on todennäköisesti vaikuttanut merkittävästi lajimme evolutiiviseen muotoutumiseen ja historialliseen kehitykseen. Investoinnit tämän ihmisen ja eläimen välisen rajapinnan parempaan ymmärtämiseen tarjoavat ihmiskunnalle etumatkaa tulevaisuudessa loputtomassa taistelussa tartuntatauteja vastaan.

**Tulos**

Ihmisen ja eläimen rajapinnan ymmärtämisen tärkeys Varhaishominineista maailmankansalaisiksi

**Esimerkki 1.47**

Kliinisestä merkityksestä huolimatta dengueviruksen (DENV) tutkimusta on haitannut se, että ei ole olemassa vankkoja käänteisgeneettisiä järjestelmiä, joilla voitaisiin manipuloida viruksen serotyyppejä lisääntymistä ja mutanttivirusten tuottamista varten. Tässä artikkelissa kuvaamme DENV:n serotyypin 1 (DENV1) infektiivisen kloonijärjestelmän soveltamista. Aiempien flavivirus- ja koronavirusten kloonien tapaan lähestymistapa rakentaa paneelin vierekkäisiä cDNA:ita, jotka kattavat DENV:n genomin ja jotka voidaan systemaattisesti ja suuntautuneesti koota elinkelpoisten, täyspitkien virusten tuottamiseksi. Tarttuvasta kloonista saadun viruksen vertailu alkuperäiseen virusisolaattiin osoittaa identtisen sekvenssin, vertailukelpoiset lopputitterit ja samanlaisen fokusvärjäytymisen. Sekä fokusmuodostusmääritykset että virtaussytometrinen prosentuaalinen infektio osoittivat päällekkäisiä replikaatiotasoja kahdessa eri solutyypissä. Lisäksi serotyyppispesifiset monoklonaaliset vasta-aineet sitoutuivat samalla tavalla tarttuvaan klooniin ja luonnolliseen isolaattiin. Kloonin avulla pystyimme lisäämään DENV4-tyyppispesifisen epitoopin, jonka kädellisten MAb 5H2 tunnisti, DENV1:n kuoriproteiinidomeeniin I (EDI) ja saimme talteen elinkelpoisen kimeerisen rekombinanttiviruksen. DENV4-tyyppispesifinen 5H2 MAb tunnisti ja neutraloi rekombinantti-ENV1-viruksen. 5H2-epitoopin käyttöönotto poisti kaksi DENV1 EDI:n epitooppia, jotka ihmisen MAb:t (1F4 ja 14C10) tunnistavat ja jotka neutraloivat voimakkaasti DENV1:n. Yhdessä tämä työ osoittaa tartuntakloonin hyödyllisyyden ja tarjoaa resurssin, jolla voidaan nopeasti manipuloida DENV1-serotyyppiä rekombinantti- ja mutanttivirusten tuottamiseksi.

**Tulos**

Epitopien lisääminen ja poistaminen manipuloimalla Dengue-viruksen serotyypin 1 tartuntakloonia

**Esimerkki 1.48**

Autofagia on solun sisäinen prosessi, jossa pitkäikäiset proteiinit ja organellit hajoavat sytosolissa solujen homeostaasin ylläpitämiseksi. Se on yhdistetty moniin ihmisen terveys- ja sairaustiloihin, kuten virusinfektioihin. Virustartunnan saaneissa soluissa on monimutkainen ristikkäisviestintä autofagian ja viruksen välillä. On osoitettu, että autofagia on vuorovaikutuksessa sekä adaptiivisen että synnynnäisen immuniteetin kanssa. Adaptiivisen immuniteetin osalta virusantigeenit voidaan käsitellä autofagosomeissa happamien proteaasien avulla ennen suuren histokompatibiliteettikompleksin (MHC) luokan II esittämistä. Synnynnäisessä immuniteetissa autofagia voi auttaa virusten nukleiinihappojen toimittamisessa endosomaalisille TLR:ille, ja se toimii myös osana TLR- tai PKR-alasvirtausreaktioita. Autofagian on myös raportoitu tukahduttavan isännän synnynnäisen virusimmuniteetin voimakkuutta tietyissä tapauksissa. Toisaalta virukset ovat kehittäneet monia strategioita torjumaan tai hyödyntämään isännän autofagiaa omaksi hyödykseen. Tässä katsauksessa käsiteltiin viimeaikaisia edistysaskeleita autofagian ja virusinfektion välisen ristikkäisviestinnän selvittämiseksi nisäkässoluissa.

**Tulos**

Autofagian ja virusinfektion välinen vuorovaikutus nisäkässoluissa

**Esimerkki 1.49**

Taustaa. Viimeaikaiset tutkimukset viittaavat siihen, että prokalsitoniiniin perustuvat ohjeet voivat vähentää antibioottien käyttöä hengitystieinfektioissa. Prokalsitoniinin tarkkuus virus- ja bakteeriperäisen keuhkokuumeen erottamisessa toisistaan vaatii kuitenkin lisäselvityksiä. Menetelmät. Arvioimme seerumin prokalsitoniinipitoisuuden yhteyttä sairaalahoitoon tullessa havaittuihin taudinaiheuttajiin monikeskuksisessa prospektiivisessa seurantatutkimuksessa, joka koski aikuisia, jotka joutuivat sairaalahoitoon yhteisperäisen keuhkokuumeen vuoksi. Systemaattisiin patogeenitesteihin sisältyi viljelyjä, serologiaa, virtsan antigeenitestejä ja molekyylien osoittamista. Laskettiin prokalsitoniinin tarkkuus virus- ja bakteeripatogeenien erottamisessa toisistaan. Tulokset. 1735 potilaasta taudinaiheuttajia tunnistettiin 645:llä (37 %), joista 169:llä (10 %) oli tyypillisiä bakteereja, 67:llä (4 %) epätyypillisiä bakteereja ja 409:llä (24 %) pelkkiä viruksia. Prokalsitoniinipitoisuuden mediaani oli matalampi viruspatogeeneilla (0,09 ng/ml; interkvarttiiliväli [IQR], <0,05-0,54 ng/ml) kuin epätyypillisillä bakteereilla (0,20 ng/ml; IQR, <0,05-0,87 ng/ml; P = 0,05) ja tyypillisillä bakteereilla (2,5 ng/ml; IQR, 0,29-12,2 ng/ml; P < 0,01). Prokalsitoniini erotti bakteeripatogeenit, mukaan lukien tyypilliset ja epätyypilliset bakteerit, viruspatogeeneistä, ja sen ROC-käyrän (receiver operating characteristic) alapuolella oleva pinta-ala oli 0,73 (95 %:n luottamusväli [CI], 0,69-,77). Prokalsitoniinin kynnysarvo 0,1 ng/ml johti 80,9 %:n (95 % CI, 75,3 %-85,7 %) herkkyyteen ja 51,6 %:n (95 % CI, 46,6 %-56,5 %) spesifisyyteen minkä tahansa bakteeripatogeenin tunnistamisessa. Prokalsitoniini erotti tyypilliset bakteerit sekä virusten ja epätyypillisten bakteerien yhdistetyn ryhmän toisistaan ROC-käyrän alapuolella olevalla pinta-alalla, joka oli 0,79 (95 % CI, 0,75-,82). Päätelmät. Mikään prokalsitoniinin kynnysarvo ei erottanut täydellisesti virus- ja bakteeripatogeeneja toisistaan, mutta korkeampi prokalsitoniini korreloi vahvasti bakteeripatogeenien, erityisesti tyypillisten bakteerien, lisääntyneen todennäköisyyden kanssa.

**Tulos**

Kliiniset infektiosairaudet Kliiniset infektiosairaudet ® 2017;65(2):183-90 Prokalsitoniini etiologian merkkiaineena aikuisilla, jotka on sairaalahoitoon otettu yhteisöpneumoniaa sairastavilla aikuisilla.

**Esimerkki 1.50**

Tartuntatautien uhatessa ryhdymme erilaisiin toimiin suojellaksemme itseämme, mutta vain harvoissa tutkimuksissa on tarkasteltu kehittyvää järjestelmää, jossa on kilpailevia strategioita. Tämän vuoksi ehdotamme evolutiivista epidemiamallia, johon on yhdistetty ihmisten käyttäytymistä ja jossa yksilöillä on kolme strategiaa: rokottaminen, itsesuojelu ja laissez faire, ja ne voivat mukauttaa strategioitaan naapureidensa strategioiden ja voittojen mukaan kunkin uuden epidemian leviämiskauden alussa. Havaitsimme vastakkaisen intuitiivisen ilmiön, joka on analoginen tunnetun Braessin paradoksin kanssa, nimittäin parempi kunto voi johtaa huonompaan suorituskykyyn. Tarkemmin sanottuna itsesuojelun onnistumisasteen nostaminen ei välttämättä vähennä epidemian kokoa tai paranna järjestelmän voittoa. Braessin paradoksin laajuus ja aste ovat herkkiä sekä epidemian leviämistä että strategian tuottoa kuvaaville parametreille, kun taas Braessin paradoksin olemassaololle ei ole herkkyyttä verkkotopologioiden suhteen. Tämä ilmiö voidaan hyvin selittää keskikentän approksimaatiolla. Tutkimuksemme osoittaa tärkeän tosiasian, jonka mukaan yksilöiden kannalta parempi tilanne voi johtaa yhteiskunnan kannalta huonompaan lopputulokseen.

**Tulos**

Braessin paradoksi epidemiapelissä: Parempi kunto johtaa pienempään voittoon

**Esimerkki 1.51**

Lasten terveydenhoitohenkilöstön käyttämien henkilökorttien ja -nauhojen on osoitettu olevan mahdollisia nosokoomisten bakteeri-infektioiden vektoreita. Tässä poikkileikkaustutkimuksessa selvitettiin lasten terveydenhuollon työntekijöiden käyttämien henkilökorttien ja kaulaliinojen kontaminaatiota yleisillä hengitystie- ja ruoansulatuskanavan viruksilla. Tulokset osoittivat, että henkilökortit ja kaitaliinat eivät ole merkittävästi saastuneet yleisillä hengitystie- tai ruoansulatuskanavaviruksilla, eivätkä ne todennäköisesti ole merkittävä nosokomiaalisten infektioiden välittäjä.

**Tulos**

Ovatko lastenlääketieteen henkilökortit ja kaulaliinat mahdollisesti viruspatogeenien saastuttamia?

**Esimerkki 1.52**

Ihmisen vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirukset (SARS-CoV) ja NL63-koronavirukset ovat ihmisen hengitystiepatogeeneja, joihin ei ole olemassa tehokasta viruslääkitystä. Koronavirusten koodaamat papaiinin kaltaiset kysteiiniproteaasit (SARS-CoV: PLpro; NL63: PLP1 ja PLP2) ovat mahdollisia kohteita viruslääkkeiden kehittämiseksi. Kolme äskettäistä inhibiittoriin sitoutuneen PLpro:n rakennetta korostavat erittäin joustavan kuuden jäännöksen silmukan merkitystä inhibiittorin sitoutumisessa. Sitoutumiskohdan suuri plastisuus on suuri haaste laskennallisessa lääkkeiden löytämisessä ja suunnittelussa. Tavanomaisen molekyylidynamiikan ja kiihdytetyn molekyylidynamiikan (aMD) simulaatioiden perusteella havaitsimme, että tavanomaisen molekyylidynamiikan simulaation avulla PLpro ottaa translatiivisesti näytteitä BL2-silmukan avoimesta ja suljetusta konformaatiosta pikosekunnin ja nanosekunnin aikaskaalalla, mutta se ei toista silmukan Tyr269- ja Gln270-jäämien välistä peptidisidoksen inversiota, joka havaitaan inhibiittoriin sitoutuessaan GRL0617:n avulla. Ainoastaan aMD-simulaatio, joka aloitti suljetun silmukan konformaatiosta, toisti 180°ϕ-ψ:n dihedraalisen rotaation takaisin avoimen silmukan tilaan. Tyr-Gln-peptidisidoksen inversio näyttää sisältävän koko silmukan asteittaisen konformaatiomuutoksen, joka alkaa toiselta puolelta ja etenee toiselle puolelle. Käytimme SARS-CoV:n apo-röntgenrakennetta kehittääksemme mallin NL63-PLP2:n katalyyttisestä kohdasta. PLP2-mallin ja PLpro:n röntgenrakenteen päällekkäin asettaminen tunnistaa PLP2:n sitoutumiskohdan jäännökset, jotka vaikuttavat näiden kahden proteaasin erilaisiin substraatin pilkkomispaikkaspesifisyyksiin. Näiden kahden proteaasin sitoutumiskohtien topologiset ja sähköstaattiset erot auttavat myös selittämään ei-kovalenttisten PLpro-inhibiittorien selektiivisyyttä.

**Tulos**

SARS:n ja NL63:n papaiinin kaltaisen proteaasin sitoutumiskohtien ja sitoutumiskohdan dynamiikan vertailu: estoaineiden suunnittelun vaikutukset

**Esimerkki 1.53**

DNA-rokotusten suurena etuna on se, että niillä voidaan saada aikaan sekä humoraalinen että soluvälitteinen immuunivaste. DNA-rokotteita käytetään nykyisin eläinlääketieteessä, mutta niitä ei ole hyväksytty laajalti käytettäväksi ihmisillä, koska niiden immunogeenisuus on ollut heikko varhaisissa kliinisissä tutkimuksissa. Viimeaikaiset kliiniset tiedot ovat kuitenkin osoittaneet uudelleen DNA-rokotteiden arvon erityisesti korkean tason antigeenispesifisten vasta-ainevasteiden käynnistämisessä. DNA-rokotteen tehon parantamiseksi on tutkittu useita lähestymistapoja, kuten DNA-rokotevektorin suunnittelun kehittämistä, geneettisesti muunnettujen sytokiiniadjuvanttien sisällyttämistä ja uusia ei-mekaanisia levitysmenetelmiä. Nämä strategiat ovat osoittautuneet lupaaviksi, ja ne ovat lisänneet adaptiivista immuunivastetta hiirten lisäksi myös suurissa eläinmalleissa. Seuraavassa tarkastelemme näiden alojen edistysaskeleita, jotka ovat lupaavia DNA-rokotteiden immunogeenisuuden lisäämiseksi.

**Tulos**

DNA-rokotevektoreiden, ei-mekaanisten jakelumenetelmien ja molekulaaristen adjuvanttien kehittyminen immunogeenisuuden lisäämiseksi.

**Esimerkki 1.54**

Laboratoriossani on 1960-luvulta lähtien käytetty ihmisen adenovirus tyypin 12 (Ad12) järjestelmää molekyylibiologian ja virusonkologian perusmekanismien tutkimiseen. Ad12 replikoituu ihmissoluissa, mutta sen sykli keskeytyy täysin syyrialaisen hamsterin soluissa. Ad12 aiheuttaa neuroektodermaalisia kasvaimia vastasyntyneissä hamstereissa (Mesocricetus auratus). Jokaisessa kasvainsolussa tai Ad12-muunnetussa hamsterisolussa on useita kopioita integroitunutta Ad12-dna:ta. Ad12-DNA integroituu yleensä yhteen kromosomikohtaan, mikä ei ole spesifistä, koska Ad12-DNA voi integroitua moniin eri kohtiin hamsterin genomissa. Epigeneettisellä tutkimuksella on merkittävä asema kasvainbiologiassa. Olemme käyttäneet ihmisen Ad12-syyrialaisen hamsterin solujärjestelmää epigeneettisten muutosten analysoimiseksi Ad12-infektoiduissa soluissa ja Ad12:n aiheuttamissa hamsterin kasvaimissa. Viruksen tai vapaan solunsisäisen Ad12:n DNA säilyy metyloitumattomana CpG-kohdissa, kun taas integroituneet viruksen genomit metyloituvat de novo tietyin mallein. Promoottorin metylaation ja aktiivisuuden välinen käänteinen korrelaatio kuvattiin ensimmäistä kertaa tässä järjestelmässä, ja se käynnisti aktiivisen tutkimuksen DNA-metylaation ja epigenetiikan alalla. Nykyään promoottorin metylaatio on tunnustettu tärkeäksi tekijäksi genomin pitkäaikaisessa hiljentämisessä. Olemme myös havainneet, että vieraan (Ad12, bakteriofagi lambda, plasmidi) DNA:n insertointi nisäkkäiden genomiin voi johtaa koko genomin laajuisiin muutoksiin metylaatio- ja transkriptiomalleissa vastaanottajien genomissa. Tämä käsite on hiljattain varmistettu pilottitutkimuksessa, jossa käytettiin ihmissoluja, jotka oli muutettu transgenomisiksi 5,6 kbp:n bakteeriplasmidille. Tällä hetkellä tutkimme epigeneettisiä vaikutuksia solujen metylaatio- ja transkriptiomalleihin Ad12-infektoituneissa soluissa ja Ad12:n aiheuttamissa hamsterin kasvainsoluissa. Näitä epigeneettisiä muutoksia pidetään ratkaisevina tekijöinä (virus)onkogeneesissä.

**Tulos**

Löydöt molekyyligenetiikassa Adenovirus 12 -järjestelmällä: Adenovirus tyyppi 12 (Ad12) - Ad12:n aiheuttamat hamsterin kasvaimet - Ad12-viruksen aiheuttama onkogeneesi - Ad12-viruksen aiheuttama onkogeneesi - Malli.

**Esimerkki 1.55**

Lintujen paramyxoviruksia (APMV) eristetään usein kotieläiminä pidetyistä ja luonnonvaraisista linnuista kaikkialla maailmassa, ja ne jaetaan yhdeksään serotyyppiin (APMV-1-9). Ainoastaan APMV-1:n osalta on tutkittu muiden kuin avian lajien tartuntaa. APMV:tä harkitaan tällä hetkellä ihmisen rokotevektoreiksi. Tässä tutkimuksessa arvioimme kaikkien yhdeksän APMV-serotyypin replikaatiota ja patogeenisuutta hamstereissa. Hamstereihin inokuloitiin intranasaalisesti kukin virus, ja niitä seurattiin kliinisen taudin, patologian, histopatologian, viruksen replikaation ja serokonversion osalta. Yhden tai useamman näistä kriteereistä perusteella jokaisen APMV-serotyypin todettiin lisääntyvän hamstereissa. APMV:t aiheuttivat hamstereissa lieviä tai epäselviä kliinisiä oireita lukuun ottamatta APMV-9:ää, joka aiheutti keskivaikean taudin. APMV-2:n ja -3:n tartunnan saaneiden hamstereiden keuhkojen pinnalla havaittiin karkeat vauriot, joissa esiintyi petekiaalisia ja ekhymoottisia verenvuotoja. Kaikkien APMV:iden paitsi APMV-5:n replikaatio varmistui nenän turbiineissa ja keuhkoissa, mikä viittaa hengitysteiden tropismiin. Histologisesti infektio johti keuhkovaurioihin, jotka vastasivat eriasteista keuhkoputkien sisäistä keuhkokuumetta, ja nenän turbiineihin, joissa nenän septumia peittävän epiteelin värekarvat tylsyivät tai hävisivät. Suurimmalla osalla APMV-infektoituneista hamstereista oli ohimeneviä histologisia vaurioita, jotka hävisivät itsestään 14 päivää tartunnan jälkeen. Kaikki APMV:llä infektoidut hamsterit tuottivat serotyyppispesifisiä HI- tai neutraloivia vasta-aineita, mikä vahvisti viruksen lisääntymisen. Yhdessä nämä tulokset osoittavat, että kaikki yhdeksän tunnettua APMV-serotyyppiä pystyvät lisääntymään hamstereissa vähäisin sairauksin ja patologisin oirein.

**Tulos**

Hamstereiden kokeellinen tartuttaminen lintujen paramyxoviruksen serotyypeillä 1-9.

**Esimerkki 1.56**

Hebein maakunnassa sijaitsevalla sikatilalla TGEV-tartunnan saaneiden porsaiden ulosteista eristetyn HB06-kannan (TGEV) membraaniproteiinigeeni (M) monistettiin käänteisellä transkriptiopolymeraasiketjureaktiolla (RT-PCR). TGEV HB06:n monistetut PCR-tuotteet kloonattiin, sekvensoitiin ja niitä verrattiin muihin GenBankista valittuihin TGEV-kantojen geeneihin. Tämän jälkeen pMD18-T:ssä oleva rekombinanttifragmentti subklonoitiin prokaryoottisen ilmentymisvektorin pGEX-6P-1 vastaaviin kohtiin EcoRI- ja XhoI-digestion jälkeen rekombinanttifuusioilmentymisvektorin pGEX-6P-M rakentamiseksi. Tämän jälkeen tarkistettu rekombinanttiplasmidi transformoitiin Escherichia coli Rossetta (DE3) -bakteeriin, ja M-fuusioproteiinin ilmentyminen indusoitiin käyttämällä induktorina isopropyylitio-beta-D-galaktosidia (IPTG). Tulokset osoittivat, että 789 bp:n pituinen M-geenifragmentti monistettiin ja kloonattiin onnistuneesti vektoriin pMD18-T, ja sekvenssivertailu GenBankissa ilmoitetun kanssa osoitti, että M-geenin täydellinen sekvenssi on yli 94-prosenttisesti homologinen nukleotidien osalta. SDS-PAGE-tulos osoitti, että rekombinantti kalvoproteiinin molekyylimassa oli noin 56 kDa, mikä vastasi odotettuja tuloksia. Western blotting -menetelmällä osoitettiin, että rekombinantti kalvoproteiini reagoi voimakkaasti positiivisesti TGEV-spesifisen vasta-aineen kanssa. Ekspressoidulla fuusioproteiinilla on siis hyvä antigeenisyys. Tämä työ loi hyvän perustan TGEV-rokotteiden tuotantoa koskeville jatkotutkimuksille.

**Tulos**

TGEV HB06 -kannan kalvoproteiinigeenin kloonaus ja ilmentyminen

**Esimerkki 1.57**

Synnynnäinen immuunivaste muodostaa ensimmäisen puolustuslinjan viruksia ja muita patogeenejä vastaan reagoimalla tiettyihin mikrobimolekyyleihin. Influenssa A -virus (IAV) tuottaa replikaation elinkaaren aikana välituotteena kaksisäikeistä RNA:ta, joka aktivoi solunsisäisen patogeenin tunnistamisreseptorin RIG-I:n ja indusoi proinflammatoristen sytokiinien ja viruksen vastaisen interferonin tuotannon. Mekanismien ymmärtäminen, jotka säätelevät synnynnäistä immuunivastetta IAV:lle ja muille viruksille, on keskeisen tärkeää uusien terapeuttisten strategioiden kehittämiseksi. Tässä tutkimuksessa käytimme myeloidisoluille spesifisiä A20 knockout -hiiriä tutkiaksemme ubikitiiniä muokkaavan proteiinin A20:n roolia myeloidisolujen vasteessa IAV-infektioon. A20-puutteelliset makrofagit olivat ylireagoivia kaksoissäikeiselle RNA:lle ja IAV-infektiolle, mikä näkyi lisääntyneenä NF-kB- ja IRF3-aktivaationa ja samanaikaisena proinflammatoristen sytokiinien, kemokiinien ja tyypin I interferonin lisääntyneenä tuotantona. In vivo tähän liittyi alveolaaristen makrofagien ja neutrofiilien määrän lisääntyminen IAV-tartunnan saaneiden hiirten keuhkoissa. Yllättäen myeloidisoluille spesifiset A20:n tyrmäyshiiret ovat suojattuja tappavaa IAV-infektiota vastaan. Nämä tulokset kyseenalaistavat yleisen käsityksen, jonka mukaan isännän liiallinen proinflammatorinen reaktio liittyy IAV:n aiheuttamaan tappavuuteen, ja viittaavat siihen, että tietyissä olosuhteissa A20:n estäminen voisi olla kiinnostavaa IAV-infektioiden hoidossa.

**Tulos**

A20 (Tnfaip3) -puutos myeloidisoluissa suojaa influenssa A -virusinfektiolta.

**Esimerkki 1.58**

Hengitysteiden synktioviruksen (RSV) fuusioglykoproteiini (F) on luonnollisesta infektiosta peräisin olevien neutraloivien vasta-aineiden pääkohde, ja vasta-aineet, jotka sitoutuvat spesifisesti RSV:n F:n prefuusio-konformaatioon, osoittavat yleensä suurinta neutralointitehoa. Prefuusion stabiloituja RSV F -muunnoksia on kehitetty rokoteantigeeneiksi, mutta näiden muunnosten kiderakenteet ovat paljastaneet konformaatioeroja keskeisessä antigeenikohdassa, joka sijaitsee trimerin kärjessä ja jota kutsutaan antigeenikohdaksi Ø. Tällä hetkellä on epäselvää, onko tämän alueen joustavuus prefuusion RSV F:n luontainen ominaisuus vai liittyykö se siihen, että Ø-kohta ei ole riittävän hyvin stabiloitunut kehitetyissä muunnoksissa. Siksi ryhdyimme tutkimaan antigeenisen kohdan Ø konformaatiojoustavuutta sekä ihmisen immuunijärjestelmän kykyä tunnistaa tämän kohdan vaihtoehtoisia konformaatioita määrittämällä kiderakenteita esifuusio-RSV F:stä, joka on sitoutunut neutraloiviin ihmisestä peräisin oleviin vasta-aineisiin AM22 ja RSD5. Molemmat vasta-aineet sitoutuivat hyvin affiniteettisesti ja olivat spesifisiä RSV F:n prefuusio-konformaatiolle. Kompleksien kiderakenteet paljastivat, että vasta-aineet tunnistivat antigeenikohdan Ø eri konformaatiot, jotka erosivat toisistaan α-kierteen keskellä sijaitsevan konservoituneen proliinijäännöksen kohdalla. Nämä tiedot viittaavat siihen, että antigeenikohta Ø on konformaatioiden kokonaisuus, jossa yksittäiset vasta-aineet tunnistavat erillisiä tiloja. Näillä tuloksilla on merkitystä pneumovirus- ja paramyxovirusfuusion proteiinien uudelleenfoldaukseen, ja niiden pitäisi antaa tietoa RSV F -rokotekandidaattien esifuusiostabiloitujen rokotteiden kehittämisestä. Hengitystieinfektiovirus (RSV) on laajalle levinnyt taudinaiheuttaja, joka aiheuttaa vakavia alempien hengitysteiden infektioita, jotka aiheuttavat vuosittain maailmanlaajuisesti noin 100 000 kuolemantapausta ja satoja miljoonia dollareita terveydenhuoltokustannuksia. Sen yleisyydestä huolimatta RSV:tä vastaan ei kuitenkaan ole rokotetta, ja ainoa saatavilla oleva hoito on rajoitettu riskiryhmään kuuluviin pikkulapsiin, joten valtaosa ihmisistä on vailla tehokkaita ehkäisy- tai hoitokeinoja. RSV:n fuusioproteiini (F-proteiini) on neutraloivien vasta-aineiden tärkein kohde, mukaan lukien erittäin voimakkaat vasta-aineet, jotka PLOS Pathogens | https://doi.recognize prefuusio-spesifiset epitoopit. Tässä tutkimuksessa määritimme kahden neutraloivan ihmisen vasta-aineen kiderakenteet, jotka ovat sitoutuneet RSV F:n esifuusioon. Tuloksemme paljastavat, että kumpikin vasta-aine tunnistaa neutralointiherkän epitoopin erilaisen konformaation, mikä viittaa siihen, että tämä alue on luonnostaan joustava ja saattaa olla tärkeä RSV F:n toiminnalle. Näiden tulosten pitäisi ohjata tulevia rokotteiden suunnittelupyrkimyksiä ja auttaa selvittämään RSV F:n laukaisu- ja fuusiomekanismeja. Antigeenikohdan konformaatiojoustavuus Ø PLOS Pathogens | https://doi.

**Tulos**

RSV F:n tärkeimmän antigeenikohdan vaihtoehtoiset konformaatiot

**Esimerkki 1.59**

Partitiviridae Evolutio a b s t r a c t Partitiviridae-suvun populaatiogenetiikkaa tutkittiin havupuiden patogeenin Gremmeniella abietinan eurooppalaisessa rodussa. Sata kuusikymmentäkaksi isolaattia kerättiin eri maista, muun muassa Kanadasta, Tšekistä, Suomesta, Italiasta, Montenegrosta, Serbiasta, Espanjasta, Sveitsistä, Turkista ja Yhdysvalloista. G. abietinan RNA-virusMS1:n (GaRV-MS1) ainutlaatuinen laji näyttää esiintyvän epäselvästi G. abietinan biotyypeissä A ja B ilman erityistä maantieteellistä levinneisyysmallia. Suoran spesifisen RT-PCR-seulonnan mukaan 46 isolaatin osoitettiin isännöivän GaRV-MS1:tä, ja virus oli yleisempi biotyypissä A kuin B. 46 osittaiseen päällystysproteiinin (CP) cDNA-sekvenssiin perustuva fylogeneettinen analyysi jakoi GaRV-MS1-populaation kahteen läheisesti toisiinsa liittyvään kladiin, kun taas RNA:sta riippuvaisen RNA-polymeraasin (RdRp) sekvenssit paljastivat vain yhden kladin. Viruksen evoluutio näyttää tapahtuneen pääasiassa puhdistusvalinnan, mutta myös rekombinaation kautta. GaRV-MS1:n kolmen täydellisen CP- ja RdRp-sekvenssin kohdistuksissa havaittiin rekombinaatiotapahtumia. Tämä on ensimmäinen kerta, kun rekombinaatiotapahtumia on tunnistettu suoraan sienipartitiviruksissa ja erityisesti G. abietinassa. Tulokset viittaavat siihen, että GaRV-MS1:n populaatiodynamiikalla ei ole suoraa vaikutusta sen isännän, G. abietinan, geneettiseen rakenteeseen, vaikka niillä on saattanut olla harmiton esi-isäsuhde.

**Tulos**

Gremmeniella abietina -lajin eurooppalainen rotu isännöi yhtä ainoaa Gammapartitiviruslajia, jolla on maailmanlaajuinen levinneisyys ja mahdollisia rekombinanttitapahtumia sen historiassa.

**Esimerkki 1.60**

Kierteeseen perustuva mikrofluidiikka Point-of-care Puuvilla Kolorimetrinen Sähkökemiallinen A B S T R A C T Viime vuosikymmeninä tutkijat ovat etsineet houkuttelevia substraattimateriaaleja, jotta mikrofluidiikka paranisi haittojen ja ongelmien vastapainoksi. Selluloosa-alustat, kuten lanka, paperi ja hydrogeelit, ovat vaihtoehtoja niiden erilaisten rakenteellisten ja mekaanisten ominaisuuksien vuoksi useissa sovelluksissa. Lanka on saanut huomattavaa huomiota ja siitä on tullut lupaava ja tehokas väline, koska sillä on etuja paperipohjaisiin järjestelmiin nähden, joten sillä on lukuisia sovelluksia diagnostisten järjestelmien, älykkäiden sidosten ja kudostekniikan kehittämisessä. Tietojemme mukaan lankapohjaista mikrofluidiikkaa käsitteleviä kattavia katsausartikkeleita ei ole julkaistu, ja sillä on merkitystä monille tiedeyhteisöille, jotka työskentelevät mikrofluidiikan, biosensoreiden ja Lab-on-Chipin parissa. Tämä katsaus antaa yleiskatsauksen kierteisiin perustuvien mikrofluidisten diagnostisten laitteiden edistymisestä erilaisissa sovelluksissa. Se alkaa valmistuksen yleisesittelyllä, jota seuraa perusteellinen katsaus tällaisten laitteiden havaitsemistekniikoihin ja erilaisiin sovelluksiin tähänastisen työmäärän ja suorituskyvyn osalta. Lisäksi keskustellaan muutamasta näkökulmasta kierteeseen perustuvan mikrofluidiikan kehityssuuntauksista. Kierrepohjainen mikrofluidiikka on vielä varhaisessa kehitysvaiheessa, ja sitä on edelleen parannettava valmistuksen, analyysistrategioiden ja toiminnan osalta, jotta siitä tulisi edullisia, pienen volyymin ja helppokäyttöisiä POC-diagnostiikkalaitteita, jotka voidaan mukauttaa tai kaupallistaa reaalimaailman sovelluksiin.

**Tulos**

Viimeaikaiset edistysaskeleet kierteisiin perustuvassa mikrofluidiikassa diagnostisia sovelluksia varten

**Esimerkki 1.61**

Elokuussa 2014 Missourin Kansas Cityn ja Illinoisin Chicagon lastensairaalat ilmoittivat tautien valvonnan ja ehkäisyn keskuksille (CDC), että sairaalahoitoon otettujen lapsipotilaiden määrä oli lisääntynyt vakavan hengityselinsairauden vuoksi. Vastauksena CDC:n raportteihin Public Health Ontario Laboratories (PHOL) käynnisti tutkimuksen potilaista, jotka testattiin enterovirus D-68:n (EV-D68) varalta Ontariossa, Kanadassa. Tutkimuksen tarkoituksena oli lisätä ymmärrystä EV-D68:n epidemiologiasta ja kliinisistä piirteistä. Tämän tutkimuksen tiedot sisälsivät näytteet, jotka toimitettiin EV-D68-testausta varten PHOL:iin 1. syyskuuta 2014 ja 31. lokakuuta 2014 välisenä aikana. Vertailu tehtiin viruksen suhteen positiivisen testin saaneiden potilaiden (tapaukset) ja negatiivisen testin saaneiden potilaiden (kontrollit) välillä. EV-D68 tunnistettiin 153/907 (16,8 %) testatuista potilaista. Logistisessa regressiomallissa, jossa mukautettiin ikä, sukupuoli, toimintaympäristö ja näytteenottoajankohta, alle 20-vuotiailla henkilöillä oli suurempi todennäköisyys saada EV-D68-diagnoosi kuin 20-vuotiailla ja sitä vanhemmilla henkilöillä, ja positiivisuus oli suurimmillaan 5-9-vuotiailla. Tapaukset eivät olleet todennäköisemmin sairaalahoidossa kuin kontrolliryhmät. Tapaukset todettiin todennäköisemmin syyskuussa kuin lokakuussa (OR 8,07; 95 % CI 5,15-12,64). Rutiininomainen virusviljely ja multipleksi-PCR olivat riittämättömiä menetelmiä EV-D68:n tunnistamiseksi, koska niiden herkkyys oli heikko ja koska EV-D68:ta ei voitu erottaa muista enterovirusserotyypeistä tai rinoviruksista. Ontariossa heinäkuusta joulukuuhun 2014 tehdyissä EV-D68-testeissä havaittiin EV-D68-virusta pienten lasten keskuudessa syys-lokakuussa 2014, ja useimmat tapaukset havaittiin syyskuussa. Sairaalahoitotilanteessa ei ollut eroa tapausten ja kontrollien välillä. Jotta tämän viruksen epidemiologiaa voitaisiin ymmärtää paremmin, EV-D68-viruksen seurantaan olisi kuuluttava oireilevien henkilöiden testaaminen kaikista hoitoympäristöistä ja potilaan ikäryhmistä sekä kattavien kliinisten ja epidemiologisten tietojen kerääminen ja analysointi.

**Tulos**

Enterovirus D68:n epidemiologia Ontariossa

**Esimerkki 1.62**

Kiinassa on havaittu taudin hengitystieoireita. COVID-19-potilaiden akuuttia sydänlihasvauriota (AMI), joka on kuolemaan johtava liitännäissairaus, ei ole kuitenkaan aiemmin tutkittu yksityiskohtaisesti. Tutkimme AMI:tä sairastavien COVID-19-potilaiden kliinisiä ominaisuuksia ja määrittelimme AMI:n riskitekijät. Analysoimme 53 peräkkäisen laboratoriossa vahvistetun ja sairaalahoitoon otetun COVID-19-potilaan (28 miestä, 25 naista; ikä 19-81 vuotta) tiedot. Keräsimme tietoja epidemiologisista ja demografisista ominaisuuksista, kliinisistä piirteistä, rutiinilaboratoriokokeista (mukaan lukien sydänvaurion biomarkkerit), kaikukardiografiasta, elektrokardiografiasta, kuvantamislöydöksistä, hoitomenetelmistä ja kliinisistä tuloksista. Tulokset: Sydänkomplikaatioita todettiin 42:lla 53 potilaasta (79,25 %): takykardia (n=15), elektrokardiografian poikkeavuudet (n=11), diastolinen toimintahäiriö (n=20), kohonneet sydänlihasentsyymit (n=30) ja AMI (n=6). Kaikki kuusi AMI-potilasta olivat yli 60-vuotiaita, ja viidellä heistä oli kaksi tai useampia perussairauksia (verenpainetauti, diabetes, sydän- ja verisuonisairaudet ja krooninen obstruktiivinen keuhkosairaus). Uuden koronaviruksen aiheuttaman keuhkokuumeen (NCP) vaikeusaste oli korkeampi AMI-potilailla kuin potilailla, joilla ei ollut määrittelemätöntä AMI:tä (p<0,001). Kaikki AMI-potilaat tarvitsivat hoitoa teho-osastolla; heistä kolme kuoli, kaksi jäi sairaalahoitoon. Monimuuttuja-analyysit osoittivat, että C-reaktiivisen proteiinin (CRP) tasot, NCP:n vaikeusaste ja taustalla olevat liitännäissairaudet olivat COVID-19-potilaiden sydämen poikkeavuuksien riskitekijöitä. Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ei ole sallittua ilman lupaa. tekijä/rahoittaja, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen pysyvästi.

**Tulos**

Coronavirus-potilaiden akuutti sydänlihasvaurio 2019

**Esimerkki 1.63**

Maailman terveysjärjestö (WHO) on suositellut, että vakavaa akuuttia hengitystieoireyhtymää (SARS) koskeva hälytys olisi annettava, kun kaksi tai useampi terveydenhuollon työntekijä samassa terveydenhuoltoyksikössä täyttää SARSin kliiniset kriteerit ja sairaus on alkanut saman 10 päivän aikana. Useissa Euroopan maissa (Italia mukaan luettuna) tietoja sairauspoissaolojen syistä ei kuitenkaan rutiininomaisesti kerätä nykyisissä terveydenhuoltohenkilöstön työntekijöiden sairauspoissaolojen raportointijärjestelmissä yksityisyyden suojaan liittyvien huolenaiheiden vuoksi. Suunnitellaksemme ehdotetun hälytysjärjestelmän käyttöönottoa Italiassa pyrimme määrittämään, kuinka monta hälytystapausta vähintään tarvitaan, jotta klusteri voidaan määritellä. Potilaat ja menetelmät: Yli 7 päivää kestäneet sairauspoissaolot kolmessa sairaalassa vuonna 2003 työskentelevillä terveydenhuollon työntekijöillä tunnistettiin tarkistamalla sairaaloiden hallinnolliset tietokannat. Terveydenhuoltohenkilöstöön kuuluviin työntekijöihin, joiden sairaus oli alkanut saman 10 päivän jakson aikana, otettiin yhteyttä ja kysyttiin, oliko heillä diagnosoitu keuhkokuume. Tulokset: Kaiken kaikkiaan kirjattiin 273 yli 7 päivää kestänyttä poissaoloa, ja tunnistettiin 36 ryhmää, joissa oli vähintään kaksi yli 7 päivää kestänyttä poissaoloa; näissä ryhmissä oli mukana yhteensä 94 HCW:tä. Ainoastaan kaksi eri ryhmiin kuuluvaa HCW:tä ilmoitti keuhkokuumeesta. Päätelmät: Kahden tai useamman keuhkokuumetapauksen ryhmittymien esiintyminen saman sairaalan yksikössä työskentelevillä HCW:llä vaikuttaa harvinaiselta tapahtumalta, joten ehdotettu hälytysjärjestelmä ei todennäköisesti aiheuta suurta määrää vääriä positiivisia hälytyksiä. Hälytysjärjestelmää voi kuitenkin olla vaikea toteuttaa maissa, joissa sairauspoissaoloja koskevia kliinisiä tietoja ei kerätä rutiininomaisesti, ja vaihtoehtoisia mekanismeja olisi harkittava.

**Tulos**

Keuhkokuumetapausten ryhmittymät terveydenhuollon työntekijöiden keskuudessa yhden vuoden aikana kolmessa italialaisessa sairaalassa: WHO:n SARS-hälytyksen soveltaminen

**Esimerkki 1.64**

G-kvadruplexeista (G4) on tullut yksi mielenkiintoisimmista nukleiinihappojen sekundaarirakenteista. G-kvadrupleksit ovat guaniinirikkaissa DNA- ja RNA-sekvensseissä muodostuva ei-kanoninen nelisäikeinen rakenne, joka voi muodostua helposti fysiologisesti merkityksellisissä olosuhteissa ja joka on pallomaisesti taitettu rakenne. DNA on laajalti tunnustettu kaksoiskelikaaliseksi rakenteeksi, joka on välttämätön geneettisen tiedon tallentamisessa. Kuitenkin vain noin 3 % ihmisen genomista ilmentyy proteiinina; RNA ja DNA voivat muodostaa ei-kanonisia sekundäärirakenteita, jotka ovat toiminnallisesti tärkeitä. G-kvadrupleksit ovat yksi tällainen esimerkki, joka on saanut huomattavaa huomiota niiden muodostumisen ja säätelytehtävien vuoksi biologisesti merkittävillä alueilla, kuten ihmisen telomeereissä, onkogeenien promoottori-alueilla, replikaation aloituskohdissa ja mRNA:n 5 0- ja 3 0-kääntymättömällä alueella (UTR). Niiden on osoitettu olevan säätelymotiivi useissa kriittisissä soluprosesseissa, kuten geenien transkription, translaation, replikaation ja genomin vakauden kannalta. G-kvadruplekseja esiintyy myös muissa kuin ihmisen genomeissa, erityisesti ihmisen patogeenien genomeissa. Siksi G-kvadrupleksit ovat nousseet uudeksi molekyylikohteiden luokaksi lääkekehitystä varten. Lisäksi G-kvadrupleksien käyttö biomateriaaleissa, biosensoreissa ja biokatalyytteissä herättää suurta kiinnostusta. Ensimmäinen kansainvälinen kokous kvadrupleksi-DNA:sta pidettiin vuonna 2007, ja G-kvadrupleksien tutkimusala on kasvanut voimakkaasti viime vuosikymmenen aikana. G-kvadrupleksien tutkimiseen käytetyt menetelmät ovat olleet olennaisen tärkeitä tämän jännittävän nukleiinihapon sekundäärirakenteen ymmärtämisen nopeassa edistymisessä.

**Tulos**

1 luku G-kvadruplexi-DNA ja -RNA

**Esimerkki 1.65**

Lisääntymisperusluku R 0 on yksi tärkeimmistä käsitteistä nykyaikaisessa tartuntatautiepidemiologiassa. Realistisemmille ja monimutkaisemmille malleille kuin niille, joissa oletetaan populaation homogeeninen sekoittuminen, voidaan kuitenkin määritellä muita kynnysarvoja, jotka ovat joskus hyödyllisempiä ja helpommin johdettavissa malliparametrien avulla. Tässä asiakirjassa esitellään malli, jossa pysyvästi immunisoivan tartunnan leviäminen sosiaalisesti kotitalouksiin ja työpaikkoihin/kouluihin jakautuneessa väestössä selvitetään, ja ehdotetaan ja käsitellään uutta kotitalouksien välistä lisääntymiskynnyslukua R H. Tässä asiakirjassa esitellään malli, jossa kotitalouksien välinen lisääntymiskynnysluku R H voidaan määrittää. Osoitamme, miten R H voittaa joitakin aiemmin ehdotetun kynnysarvoparametrin rajoituksia, ja korostamme sen suhdetta epidemian hallintaan tarvittaviin ponnisteluihin, kun toimenpiteet kohdistetaan satunnaisesti valittuihin kotitalouksiin.

**Tulos**

Kynnysarvoparametrit kotitalouksien ja työpaikkojen välisen epidemian leviämismallissa.

**Esimerkki 1.66**

Tulokset PLANET perustuu reaaliaikaisiin tietoihin, jotka saadaan laajamittaisten ohjelmien kolmelta osallistujatasolta: rahoittajilta, hallinnoijilta ja vastaanottajilta. Kullakin tasolla pyydetään tietoja viiden keskeisen riskin arvioimiseksi, jotka ovat olennaisimpia kunkin toimintatason kannalta. Rahoittajien tasolla riskit liittyvät tiettyjen alojen järjestelmälliseen laiminlyöntiin, avunantajien etujen asettamiseen ohjelman vastaanottajien etujen edelle, avunantajien tehottomaan koordinointiin, kyseenalaisiin toimitusmekanismeihin ja rahoituksen liialliseen menettämiseen "välikäsien" hyväksi. Hallinnoijien tasolla riskejä ovat korruptio, kapasiteetin ja/tai pätevyyden puute, tiedon ja/tai viestinnän puute, valtiollisten rakenteiden tarpeeton välttäminen / valtiosta riippumattomien järjestöjen suosiminen ja paikallisen asiantuntemuksen poissulkeminen. Ensisijaisten vastaanottajien tasolla riskejä ovat korruptio, rinnakkaiset toiminnot / "vertikalisoituminen", yhteensopimattomuus paikallisten prioriteettien kanssa ja yhteisön osallistumisen puute, eettiset, oikeudenmukaisuus- ja/tai hyväksyttävyyskysymykset sekä vähäinen todennäköisyys kestävyyteen ohjelman täytäntöönpanon jälkeen. Tulkinta PLANET on tarkoitettu poliittisten päättäjien käytettävissä olevaksi lisävälineeksi laajamittaisten kehitysohjelmien priorisointiin, seurantaan ja arviointiin. Tässä yhteydessä sen olisi täydennettävä sellaisia välineitä kuin LiST (terveydenhuoltoa/interventioita varten), EQUIST (terveydenhuoltoa/interventioita varten) ja CHNRI (terveystutkimusta varten), jotka myös perustuvat paikallisilta asiantuntijoilta saatuihin tietoihin ja paikalliseen kontekstiin, jotta prioriteetit voidaan asettaa avoimella, käyttäjäystävällisellä, toistettavalla, mitattavissa olevalla, määrällisellä ja täsmällisellä, algoritmimaisella tavalla.

**Tulos**

NÄKÖKULMAT PaPErS journal of health global Terveysavun parantaminen paremman planeetan puolesta: Suunnittelu-, seuranta- ja arviointiväline (PLaNET).

**Esimerkki 1.67**

Taustaa: Arvioiden mukaan vuosittain esiintyy 50-100 miljoonaa denguekuumetapausta ja 250 000-500 000 tapausta denguekuumeen hemorragista kuumetta/denguekuumeen sokki-oireyhtymää, mutta denguekuumeen patogeneesin selkeä ymmärtäminen on edelleen vaikeasti saavutettavissa. Koska eläimillä ei ole tautimallia ja koska dengue-infektiossa on monimutkainen immuunijärjestelmän vuorovaikutus, isännän vasteen ja immunopatogeneesin tutkiminen on vaikeaa. Genomitekniikan, mikrosirujen ja korkean läpimenon kvantitatiivisen PCR:n kehittymisen ansiosta tutkijat ovat voineet tutkia geeniekspression muutoksia paljon laajemmassa mittakaavassa. Siksi käytimme tätä lähestymistapaa tutkiaksemme isännän vastetta dengueviruksen tartuttamissa solulinjoissa ja denguekuumetta sairastavilla potilailla. Menetelmä/päälöydökset: Käyttämällä mikrosarray- ja korkean läpimenon kvantitatiivista PCR-menetelmää seurataksemme isännän vastetta dengueviruksen replikaatiolle solulinjojen infektiomalleissa ja denguepotilaiden verinäytteissä, tunnistimme eri tavoin ilmentyviä geenejä kolmella tärkeällä reitillä: NF-kB:n käynnistämä immuunivaste, tyypin I interferoni (IFN) ja ubikitiiniproteasomireitti. Korkeimmin säänneltyjen geenien joukossa olivat kemokiinit IP-10 ja I-TAC, jotka molemmat ovat CXCR3-reseptorin ligandeja. IP-10:n ja I-TAC:n lisääntynyt ilmentyminen kymmenen potilaan perifeerisessä veressä kuumeen varhaisessa vaiheessa vahvistettiin ELISA-testillä. IFN-reitin voimakkaasti säännelty geeni, viperin, yliekspressoitiin A549-soluissa, mikä johti viruksen replikaation merkittävään vähenemiseen. Ubikitiini-proteasomireitin geenien regulaatio johti proteasomin estäjien MG-132:n ja ALLN:n testaamiseen, jotka molemmat vähensivät viruksen replikaatiota. Päätelmät/merkitys: Puolueettoman geeniekspressioanalyysin avulla on tunnistettu uusia dengue-infektioon liittyviä isäntägeenejä, jotka olemme validoineet toiminnallisissa tutkimuksissa. Osoitimme, että joitakin isännän vasteen osia voidaan käyttää taudin mahdollisina biomarkkereina, kun taas toisia voidaan käyttää dengueviruksen replikaation hallintaan, ja ne ovat siten käyttökelpoisia lääkehoidon kohteita.

**Tulos**

Dengue-virusinfektion isäntägeenien ilmentymisprofiilien profilointi solulinjoissa ja potilailla.

**Esimerkki 1.68**

Vieraiden geenien ilmentämiseen eukaryoottisoluissa käytettiin rekombinanttirokotevirusta, joka tuottaa bakteriofagi T7 RNA-polymeraasia. Translaatiotehokkuutta tässä ekspressiojärjestelmässä parannettiin merkittävästi käyttämällä enkefalomyokardiittiviruksen (EMCV) 5'-untransloidun alueen (UTR) käyttöä, joka mahdollistaa cap-riippumattoman translaation ohjaamalla translaation sisäistä käynnistymistä. Tehostaminen saavutettiin fuusioimalla avoimet lukukehykset (ORF) EMCV:n polyproteiinia koodaavan alueen N-päätteeseen, jolloin hyödynnettiin sen erittäin tehokasta translaation aloituskohtaa. Ekspressiovektorit rakennettiin siten, että ne mahdollistavat kaikkien kolmen lukukehyksen kloonauksen. Raportointigeeneinä käytimme IucZ-geeniä ja useita geenejä, jotka koodaavat koronaviruksen rakenneproteiineja: muun muassa geenejä, jotka koodaavat glykoproteiineja, joilla on N-terminaalinen signaalijakso. Näiden glykoproteiinien signaalisekvenssit sijaitsevat sisäisesti primaarisessa translaatiotuotteessa. Osoitimme, että tämä ei häiritse translokaatiota ja glykosylaatiota ja että näin saadaan biologisesti aktiivisia proteiineja. Sisäistä aloitusta ohjaavien sekvenssien hyödyllisyyttä laajennettiin käyttämällä EMCV UTR s:ää kahden ja kolmen ORF:n ilmentämiseen polykistronisista mRNA:ista.

**Tulos**

Vaccinia-virus/fage T7 RNA-polymeraasi -ekspressiojärjestelmän tehostaminen enkefalomyokardiittiviruksen 5'-kääntämättömän alueen sekvensseillä.

**Esimerkki 1.69**

on levinnyt nopeasti lähes kaikkialle maailmaan. SARS-CoV-2:n piikkiproteiinin S1-alayksikön distaalisessa osassa oleva reseptoria sitova domeeni (RBD) voi suoraan sitoutua angiotensiinikonvertaasientsyymi 2:een (ACE2). RBD edistää viruksen pääsyä isäntäsoluihin ja on tärkeä terapeuttinen kohde. Tässä tutkimuksessa havaitsimme, että teaflaviini osoitti alhaisempaa idock-pistemäärää (idock-pistemäärä: -7,95 kcal/mol). Tuloksen vahvistamiseksi havaitsimme, että teaflaviini osoitti FullFitness-pistemäärän -991,21 kcal/mol ja arvioidun ΔG:n -8,53 kcal/mol suotuisimmalle vuorovaikutukselle SARS-CoV-2 RBD:n kontaktialueen kanssa SwissDock-palvelun avulla. Kontaktimoodien osalta hydrofobiset vuorovaikutukset vaikuttavat merkittävästi sitoutumiseen, ja ylimääräisiä vetysidoksia muodostui teaflaviinin ja SARS-CoV-2 RBD:n Arg454:n, Phe456:n, Asn460:n, Asn480:n, Cys480:n, Gln493:n, Asn501:n ja Val503:n välille, jotka ovat lähellä suoraa kontaktialuetta ACE2:n kanssa. Tuloksemme viittaavat siihen, että teaflaviini voisi olla SARS-CoV-2:n sisäänpääsyn estäjäehdokas jatkotutkimuksia varten.

**Tulos**

Mahdollinen SARS-CoV-2:n pääsyn estäjä

**Esimerkki 1.70**

Käytimme regressiomallia tutkiaksemme influenssan vaikutusta kuolemantapauksiin trooppisessa Singaporessa vuosina 1996-2003. Influenssa A (H3N2) oli vallitseva kiertävä influenssaviruksen alatyyppi, jolla oli johdonmukaisesti merkittävä ja vankka vaikutus kuolleisuuteen. Influenssaan liittyi vuotuinen kuolleisuus kaikista syistä, keuhkokuumeeseen ja influenssaan sekä verenkierto- ja hengityselinsairauksiin 14,8 (95 prosentin luottamusväli 9,8-19,8), 2,9 (1,0-5,0) ja 11,9 (8,3-15,7) kuolemantapausta 100 000 henkilötyövuotta kohti. Nämä tulokset ovat vertailukelpoisia Yhdysvalloissa ja subtrooppisessa Hongkongissa tehtyjen havaintojen kanssa. Arviolta 6,5 prosenttia taustalla olevista keuhkokuume- ja influenssakuolemista johtui influenssasta. Influenssaan liittyvien kuolemantapausten osuus oli 11,3 kertaa suurempi yli 65-vuotiailla kuin väestössä yleensä. Tuloksemme tukevat influenssan seurannan ja vuotuisten influenssarokotusten tarvetta trooppisten maiden riskiväestössä.

**Tulos**

Influenssaan liittyvät kuolemantapaukset trooppisessa Singaporessa Influenssaan liittyvät kuolemantapaukset trooppisessa Singaporessa

**Esimerkki 1.71**

Monet virukset aiheuttavat taudin tartunnan saaneessa isännässä sen jälkeen, kun ne ovat levinneet alkuperäisestä tartuntaportaalista toissijaisiin lisääntymispaikkoihin. Virukset voivat levitä verenkierron tai hermojen kautta. Nisäkkäiden ortoreovirukset (reovirukset) ovat neurotrooppisia viruksia, jotka käyttävät sekä veri- että hermoratoja levitäkseen systeemisesti isännissään aiheuttaakseen taudin. Käyttämällä vankkaa hiirimallia ja dynaamista käänteisgeneettistä järjestelmää olemme tunnistaneet viruksen reseptorin ja viruksen ei-rakenteellisen proteiinin, jotka ovat välttämättömiä hematogeeniselle reoviruksen leviämiselle. Junctional adhesion molecule-A (JAM-A) on immunoglobuliinien superperheen jäsen, joka ilmentyy tiiviissä liitoksissa ja hematopoieettisissa soluissa ja toimii reseptorina kaikille reoviruksen serotyypeille. JAM-A:n ilmentymistä tarvitaan endoteelisolujen infektioon ja viruksen kehittymiseen hiirissä, mikä viittaa siihen, että viruksen vapautuminen verenkiertoon infektoituneista endoteelisoluista edellyttää JAM-A:ta. Ei-rakenteellinen proteiini σ1s osallistuu solusyklin pysähtymiseen ja apoptoosiin reoviruksen infektoimissa soluissa, mutta se on täysin tarpeeton reoviruksen replikaatiolle viljellyissä soluissa. Yllättäen rekombinantti σ1s-null reoviruskanta ei leviä hematogeenisesti infektoituneissa hiirissä, mikä viittaa siihen, että σ1s helpottaa reoviruksen infektoimien suoliston epiteelisolujen apoptoosia. On mahdollista, että σ1s:n ilmentymisen seurauksena muodostuneet apoptoottiset kappaleet johtavat reoviruksen imeytymiseen dendriittisiin soluihin, jotka sen jälkeen kulkeutuvat suoliliepeen imusolmukkeeseen ja vereen. Näin ollen reoviruksen tehokkaaseen hematogeeniseen leviämiseen tarvitaan sekä isäntä- että virustekijöitä. Reoviruksen verenkierron kautta tapahtuvan leviämisen mekanismien ymmärtäminen voi valaista sitä, miten mikrobipatogeenit tunkeutuvat verenkiertoon levitäkseen ja aiheuttaakseen taudin tartunnan saaneessa isännässä.

**Tulos**

Reoviruksen leviämismekanismit verenkiertoon

**Esimerkki 1.72**

Terveydenhuoltoon liittyvät infektiot ovat merkittävä kansanterveysongelma, jolla on merkittävä vaikutus sairastuvuuteen, kuolleisuuteen ja elämänlaatuun. Ne ovat myös merkittävä taloudellinen rasite terveydenhuoltojärjestelmille maailmanlaajuisesti. Suuri osa hoitoon liittyvistä infektioista on kuitenkin ehkäistävissä tehokkailla infektioiden ehkäisy- ja valvontatoimenpiteillä. Sisäisen hygienian parantaminen kansallisella ja laitostasolla on ratkaisevan tärkeää, jotta mikrobilääkeresistenssiä voidaan hillitä ja HAI:itä ehkäistä, mukaan luettuina helposti tarttuvien tautien puhkeamiset, laadukkaalla hoidolla yleisen terveydenhuollon kattavuuden puitteissa. Koska näyttöön perustuvia IPC-ohjeita ja -standardeja on saatavilla vain vähän, Maailman terveysjärjestö (WHO) päätti asettaa etusijalle systemaattisiin kirjallisuuskatsauksiin ja asiantuntijoiden yksimielisyyteen perustuvien maailmanlaajuisten suositusten laatimisen tehokkaiden IPC-ohjelmien keskeisistä osatekijöistä sekä kansallisella että akuuttihoidon laitostasolla. Ohjeiden laatimisprosessin tavoitteena oli tunnistaa näyttö ja arvioida sen laatu, ottaa huomioon potilaiden arvot ja mieltymykset, resurssivaikutukset sekä suositusten toteutettavuus ja hyväksyttävyys. Tämän tuloksena tässä esitetään 11 suositusta ja kolme hyvää käytäntöä koskevaa lausuntoa sekä yhteenveto niitä tukevasta näytöstä, ja ne muodostavat WHO:n uuden IPC-ohjeen sisällön.

**Tulos**

Tehokkaiden infektioiden ehkäisy- ja valvontaohjelmien keskeiset osatekijät: WHO:n uudet näyttöön perustuvat suositukset.

**Esimerkki 1.73**

Hepatiitti B -virusinfektiota (HBV) pidetään maailmanlaajuisesti merkittävänä kansanterveysongelmana, ja sairaalainfektioita ja työperäisiä taudinpurkauksia on raportoitu runsaasti. Tässä järjestelmällisessä tutkimuksessa HBV:n stabiilisuudesta ja herkkyydestä eri antiseptisille aineille kävi ilmi, että HBV:n infektiivisyys oli hyvin stabiili, ja sen puoliintumisaika 37 °C:n lämpötilassa oli > 22 päivää. Infektiivisyys ei juurikaan vähentynyt 4 °C:ssa jopa 9 kuukauden ajan. Erilaisilla alkoholeilla ja kaupallisesti saatavilla olevilla käsiantiseptisillä aineilla oli virussidinen vaikutus HBV:tä vastaan. Ehdotamme, että vakiintuneiden hygieniaohjeiden erittäin tiukka noudattaminen olisi pakollista HBV-infektioiden välttämiseksi ja ehkäisemiseksi.

**Tulos**

The Journal of Infectious Diseases Hepatiitti B -viruksen suuri ympäristövakaus ja kemiallisten biosidien inaktivointivaatimukset

**Esimerkki 1.74**

Krooniset sairaudet ovat maailmanlaajuisesti kansanterveyden kannalta hallitsevia kysymyksiä kuolleisuuden, sairastuvuuden ja kustannusten kannalta, ja ne on todettu sellaisiksi jo yli 40 vuoden ajan. Vallitsevasta asemastaan huolimatta näihin sairauksiin - sydän- ja verisuonisairauksiin, diabetekseen, syöpään, keuhkosairauksiin, mielenterveyteen ja dementiaan - kiinnitetään kuitenkin vain vähän huomiota kansanterveyden opetussuunnitelmissa ja vielä vähemmän rahoitusyhteisössä. Tutkimme perusteluja, jotka ovat ylläpitäneet tätä kyvyttömyyttä tai haluttomuutta sovittaa yhteen tarve ja ponnistelut. Tarkastelemme kolmea käsitettä, jotka estävät tämän suhteen muuttamisen: 1) perinteinen kontekstisidonnainen näkemys kansanterveydestä, joka syntyi toisen maailmansodan jälkeisenä aikana, tosin suurella menestyksellä; 2) kansanterveyden epäonnistuminen siirtymisessä talouskehitykseen terveysavun päämääränä; ja 3) kansanterveyden haluttomuus kohdata sosiaaliset, poliittiset ja taloudelliset politiikat, jotka ovat kansanterveyden taustalla vaikuttavien tekijöiden painopistealueita. Lopuksi keskustelemme siitä, että kansanterveyden on laajennettava näköalojaan ja purettava siilomuurit, jotka estävät merkityksellisen globaalin kansanterveyden syntymisen.

**Tulos**

Ja miksi niin suuri "ei"? Lahjoittaja- ja tiedeyhteisöjen epäonnistuminen maailmanlaajuisten kroonisten sairauksien torjunnassa.

**Esimerkki 1.75**

Taustaa: Bovine coronavirus (BCoV) on laajalle levinnyt taudinaiheuttaja, joka aiheuttaa tauteja ja taloudellisia menetyksiä nautaeläintuotannossa maailmanlaajuisesti. Viruksen leviämisen estämistä vaikeuttaa perustietojen puute viruksen irtoamisesta ja tartuntamahdollisuuksista yksittäisissä eläimissä. Tutkimuksen tavoitteena oli tutkia BCoV:n irtoamisen kestoa ja määrää ulosteessa ja nenäneritteessä suhteessa kliinisiin oireisiin, viruksen esiintymistä veressä ja kudoksissa sekä testata hypoteesia, jonka mukaan seropositiiviset vasikat eivät ole tarttuvia naiiveille, kontaktissa olleille vasikoille kolme viikkoa BCoV-tartunnan jälkeen. Menetelmät: Koe tehtiin elävillä eläimillä, ja eläinryhmien väliset suorat kontaktit kestivät 24 tuntia. Neljä naiivia vasikkaa sekoitettiin kuuden luonnollisesti tartunnan saaneen vasikan ryhmään ja lopetettiin peräkkäin. Kaksi naiivia vartijavasikkaa yhdistettiin kokeellisesti altistuneeseen ryhmään kolme viikkoa altistumisen jälkeen. Nenänäytteistä, ulosteista, verestä ja kudosnäytteistä analysoitiin virus-RNA RT-qPCR:llä, ja viruseristys tehtiin nenänäytteistä. Seerumista analysoitiin BCoV-vasta-aineet. Tulokset: Vasikoilla oli lieviä yleisoireita, ja selvimmät oireet olivat hengityselimistä. Kliininen yleisarvosana vastasi hyvin viruksen RNA:n irtoamista kolmen ensimmäisen viikon aikana haasteesta. Yleinen masennus ja yskä olivat oireita, jotka korreloivat parhaiten BCoV:n RNA:n irtoamisen kanssa, kun taas hengitystaajuuden huippu ja peräsuolen huippulämpötila ilmenivät yli viikkoa myöhemmin kuin irtoamisen huippu. Nenän kautta tapahtuva irtoaminen edelsi ulosteen kautta tapahtuvaa irtoamista, ja vasikoilla oli havaittavissa olevia määriä viruksen RNA:ta ajoittain ulosteessa päivään 35 asti ja nenän eritteessä päivään 28 asti, mutta viruksen eristäminen ei onnistunut kuudennesta ja 18. päivästä lähtien kahdesta tutkitusta vasikasta. Virus-RNA:ta ei havaittu verestä, mutta sitä löytyi imukudoksesta 42. päivään asti haasteesta. Vaikka vasikoilla oli BCoV:n RNA:ta 21 päivän kuluttua tartunnasta, vartijaeläimet eivät olleet saaneet tartuntaa. Päätelmät: BCoV:n RNA:n pitkäkestoista irtoamista voi esiintyä, mutta viruksen RNA:n havaitseminen ei välttämättä osoita tartuntamahdollisuutta. Tutkimus tarjoaa arvokasta tietoa tieteellisesti perusteltujen bioturvallisuusohjeiden laatimista varten.

**Tulos**

Nautaeläinten koronavirus luonnollisesti ja kokeellisesti altistuneilla vasikoilla; viruksen irtoaminen ja tartuntamahdollisuus

**Esimerkki 1.76**

Raportoimme ensimmäisestä tapauksesta, jossa Panton-Valentine-leukosidiinia tuottava Staphylococcus aureus on tarttunut lääkäriin elvytettäessä kuolemaan johtaneesta keuhkokuumeesta kärsivää pikkulasta. Lääkärillä oli lukuisia furunkkeleita. Tämä tapaus korostaa, että terveydenhuollon työntekijöiden on suojeltava itseään tartuntatautien siirtymiseltä potilaasta hoitohenkilökuntaan. Vakavat hengitystiesairaudet immunokompetenteilla imeväisillä ja krooninen furunkuloosi on yhdistetty Staphylococcus aureus -kantoihin, jotka tuottavat Panton-Valentine-leukosidiinia (PVL), sytotoksiinia, joka aiheuttaa leukosyyttien tuhoutumista ja kudosnekroosia [1] . PVL:ää tuottavan S. aureuksen tiedetään aiheuttavan nopeasti laajenevaa ja nekrotisoivaa keuhkokuumetta lapsille ja nuorille aikuisille. Raportoimme tietojemme mukaan ensimmäisen tapauksen, jossa PVL:ää tuottava S. aureus on tarttunut lääkäriin elvytettäessä kuolemaan johtaneesta keuhkokuumeesta kärsivää pikkulasta. Tapausselostus. Neljän kuukauden ikäinen poika otettiin Saint-Vincent-de-Paul-sairaalan (Pariisi) lastenosastolle, ja hänellä oli ollut kolmen päivän ajan yskää ja yhden päivän ajan kohtalaista kuumetta. Fyysinen tutkimus osoitti vain lievää hengitysvaikeutta. Rintakehän röntgenkuvaus oli normaali, samoin WBC-arvo sekä C-reaktiivisen proteiinin ja prokalsitoniinin pitoisuudet. Diagnoosina oli bronkioliitti, eikä potilas saanut antibiootteja. Hengitysvajaus eteni 12 tunnin kuluessa sisäänpääsystä, ja potilas tarvitsi nenähappihoitoa. Lääkärin suorittaman fyysisen tutkimuksen aikana potilas sai sydänpysähdyksen. Elvytystoimenpiteet, mukaan lukien suun kautta tapahtuva intubaatio, hapetus, pussi-venttiili-maskihengitys, rintakehän painelu ja adrenaliinin antaminen suonensisäisesti, suoritettiin välittömästi, ja niitä jatkettiin 1 tunnin ajan tuloksetta. Huomionarvoista oli, että intubaation aikana havaittiin verenkiertoa henkitorvesta. Suun ja henkitorven imu suoritettiin toistuvasti. Koska elvytys tapahtui lasten yleisosastolla, elvytykseen osallistuneet terveydenhuollon työntekijät eivät käyttäneet mitään suojaimia, kuten kasvonaamaria ja käsineitä. Ruumiinavaus tehtiin, ja siinä todettiin oikean keuhkolohkon keuhkokuume, johon liittyi nekrotisoiva verenvuoto koko oikeassa keuhkossa ja puolet vasemmasta keuhkosta. Henkitorven aspiraateista otetussa viljelynäytteessä kasvoi metisilliinille herkkää S. aureusta. S. aureus -bakteerin tunnistaminen perustui pesäkkeiden morfologiaan, sitratun kaniplasman (bioMérieux) hyytymiseen ja hyytymistekijän tuotantoon (määritettiin Staphyslide-testillä; bioMérieux). Metisilliiniresistenssi määritettiin Kirby-Bauerin levydiffuusiomenetelmällä käyttäen 5 mg:n oksasilliinikiekkoa NCCLS:n suositusten [2] mukaisesti 24-48 tunnin inkubaation jälkeen 35ЊC:ssa. S. aureus-isolaatti oli resistentti ainoastaan penisilliinille ja amoksisilliinille ja herkkä metisilliinille, aminosideille, makrolideille, kinolonille ja kotrimoksatsolille. Viidentenä päivänä intubaation suorittaneella lääkärillä oli lukuisia furunkkeleita sormissa ja kasvoissa. Ihovaurioista otettiin näytteet. Samaan aikaan otettiin nenänäytteet 15:ltä elvytykseen osallistuneelta terveydenhuollon työntekijältä. Lääkärin ja viiden muun terveydenhuollon työntekijän näytteistä eristettiin metisilliinille herkkiä S. aureus -kantoja. Imeväisestä saatu isolaatti (S1, eristetty henkitorvenäytteestä) ja 7 isolaattia kuudesta terveydenhuollon työntekijästä (S2, eristetty yhden lääkärin ihovauriosta, S4 ja S5 toisen lääkärin nenästä ja peräaukosta otetuista näytteistä ja S3, S6, S7 ja S8 neljän sairaanhoitajan nenästä otetuista näytteistä) genotyypiteltiin ja analysoitiin PVL-geenin esiintymisen varalta. Genotyypin määrityksessä käytetty PFGE tehtiin DNA-fragmenteille, jotka saatiin sulattamalla ne restriktioentsyymi SmaI:lla CHEF-MAPPER-laitteella. PFGE-kaistakuvioita verrattiin visuaalisesti. Kannat katsottiin geneettisesti erotettaviksi, jos niiden restriktiokuvioinnit erosivat toisistaan у3 nauhan verran [3] . Imeväisikäisen (S1) ja 1

**Tulos**

Panton-Valentine Leukocidin -leukosidiinia tuottavan Staphylococcus aureus -bakteerin siirtyminen lääkärille lapsen elvytyksen aikana.

**Esimerkki 1.77**

Hepatiitti B -virus (HBV) on ainutlaatuinen, pieni, osittain kaksisäikeinen, käänteiskirjoittava DNA-virus, jonka proteiineja koodataan useilla päällekkäisillä lukukehyksillä. Korvautumisnopeus on yllättävän korkea DNA-virukseksi, mutta alhaisempi kuin muilla käänteisesti transkriboivilla organismeilla. Yli 260 miljoonalla ihmisellä maailmassa on krooninen HBV-infektio, joka aiheuttaa vuosittain 0,8 miljoonaa kuolemantapausta. Suuren tautitaakan vuoksi kansainväliset terveysjärjestöt ovat asettaneet tavoitteeksi HBV-infektion hävittämisen vuoteen 2030 mennessä. Kiehtovaa HBV:n genomia ei kuitenkaan ole hyvin karakterisoitu. Esitämme yhteenvedon HBV:n genomin rakennetta ja replikaatiosykliä koskevista tiedoista, selitämme ja kvantifioimme monimuotoisuutta tartunnan saaneiden yksilöiden sisällä ja niiden välillä sekä keskustelemme edistysaskeleista, joita seuraavan sukupolven sekvensointitekniikan soveltaminen voi tarjota. HBV:n genomin perusteelliset analyysit voisivat lisätä ymmärrystämme taudin patogeneesistä ja antaa meille mahdollisuuden ennustaa paremmin potilaiden tuloksia, optimoida hoitoa ja kehittää uusia terapioita.

**Tulos**

Insights From Deep Sequencing of the HBV Genome-Unique, Tiny, and Misunderstood Abbreviations used in the

**Esimerkki 1.78**

Interferonijärjestelmä (IFN) on yksi nisäkkäiden tärkeimmistä viruksia vastaan suunnatuista puolustusreaktioista, ja se käynnistyy nopeasti, kun virusten patogeeniin liittyvät molekyylimallit (PAMP) havaitaan. RNA-virusten PAMP-molekyylimolekyyleiksi on tunnistettu muita kuin itse viruksesta peräisin olevia RNA-lajeja. Tässä tutkimuksessa vertailimme erityyppisiä IFN-β:tä indusoivia ja -ei-indusoivia viruksia Sendai-virusinfektion yhteydessä. Havaitsimme, että IFN-β-indusoivien virusten infektioissa tuotettiin eräitä epätavallisia viruksen RNA-lajeja, jotka kerääntyivät erilaisiin sytoplasmarakenteisiin RNA-tyypistä riippuvaisella tavalla. Yksi näistä rakenteista oli samankaltainen kuin niin sanotut antiviraaliset stressirakeet (avSG), jotka muodostuivat infektiossa IFN-indusoivilla viruksilla, joiden C-proteiinit olivat tyrmättyjä tai mutatoituneita. Näihin rakeisiin kertyi kapsidoimatonta, epätavallista viruksen RNA:ta, joka sisälsi viruksen genomin 5 -terminaalialueen sekä RIG-I:tä ja tyypillisiä SG-markkereita. Toinen oli Cantell-kannan infektiossa muodostunut ei-SG:n kaltainen sulkeuma; sulkeumaan kerääntyi spesifisesti kopiointityyppinen DI-genomi, mutta ei aito viruksen genomi, kun taas RIG-I ja SG-markkerit eivät kerääntyneet. IFN-β:n induktio liittyi läheisesti näiden epätavallisten RNA:iden tuotantoon sekä sytoplasmarakenteiden muodostumiseen.

**Tulos**

Frontiers in Microbiology -lehden jakso IFN-β-indusoivat, epätavalliset viruksen RNA-lajit, joita paramyxovirusinfektio tuottaa, kerääntyvät erilaisiin sytoplasman rakenteisiin RNA-tyypistä riippuvaisella tavalla.

**Esimerkki 1.79**

Tausta: c-Jun NH 2 -terminaalinen kinaasi/stressiaktivoitu kinaasi (JNK/SAPK) ja p38 mitogeeniaktivoitu proteiinikinaasi (p38 MAPK) ovat tärkeitä osia solujen signaalinvälitysreiteistä, joiden on raportoitu olevan osallisina virusten replikaatiossa. JNK1/2- ja p38 MAPK-signalointireiteistä enterovirus 71:n (EV71) infektoimissa epäkypsissä dendriittisissä soluissa (iDC) tiedetään kuitenkin vain vähän. Näin ollen iDC-solut indusoitiin perifeerisen veren mononukleaarisista soluista (PBMC) ja tutkittiin näiden kahden signaalireitin molekyylien ilmentymistä ja fosforylaatiota sekä tulehdussytokiinien ja interferonien eritystä EV71:n replikaation aikana. Tulokset: Osoitimme, että EV71-infektio saattoi aktivoida sekä JNK1/2:n että p38 MAPK:n iDC:ssä ja fosforyloida niiden myöhemmän vaiheen transkriptiotekijät c-Fos ja c-Jun, mikä edelleen edisti IL-2:n, IL-6:n, IL-10:n ja TNF-α:n tuotantoa. Lisäksi EV71-infektio lisäsi myös IFN-β:n ja IL-12 p40:n vapautumista. iDC:iden esikäsittely SP600125:llä ja SB203580:llä (20 μM) saattoi heikentää vakavasti viruksen replikaatiota ja sen indusoimaa JNK1/2:n, p38 MAPK:n, c-Fosin ja c-Junin fosforylaatiota. Lisäksi EV71-infektoituneiden iDC:iden käsittely SP600125:llä ja SB203580:llä voisi estää IL-6:n, IL-10:n ja TNF-α:n eritystä. Päätelmät: JNK1/2- ja p38 MAPK-signalointireitit ovat suotuisia EV71-infektiolle ja säätelevät positiivisesti tulehdussytokiinien eritystä iDC:ssä.

**Tulos**

JNK1/2- ja p38 MAPK-signalointireittien aktivoituminen edistää enterovirus 71 -infektiota epäkypsissä dendriittisissä soluissa.

**Esimerkki 1.80**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli saada tietoa elävien lintujen markkinoilta kerättyjen ilmassa olevien hiukkasten haitallisista terveysvaikutuksista ja selvittää, selittääkö hiukkasten sisältämä biologinen materiaali immuunijärjestelmään liittyvän tulehdusreaktion. Hiiret altistettiin kerta-annokselle tai toistuvalle PM-annokselle, minkä jälkeen tollin kaltaisten reseptorien (TLR), sytokiinien ja kemokiinien ilmentymistä tartunnan saaneiden hiirten keuhkoissa tutkittiin entsyymisidonnaisella immunosorbenttimäärityksellä ja histopatologisella analyysillä. Tulokset yksittäisen ja toistuvan PM-stimulaation jälkeen PM + + 2,5 , PM - 2,5 , PM 10 ja PM - 10 osoittivat, että TLR2:lla ja TLR4:llä oli hallitseva rooli keuhkojen tulehdusreaktioissa. Tarkempi analyysi osoitti, että IL-1β:n, TNF-α:n, IFN-γ:n, IL-8:n, IP-10:n ja MCP-1:n ilmentymistasot kasvoivat merkittävästi, mikä voi lopulta vaikuttaa keuhkovaurioon. Lisäksi PM:n biologiset komponentit olivat kriittisiä välittäessään immuunijärjestelmään liittyviä tulehdusreaktioita, eikä niitä pitäisi siksi jättää huomiotta.

**Tulos**

Immuunisuuteen liittyvien proteiinien ilmentyminen ja patologiset keuhkovauriot hiirillä elävien lintujen markkinoilta peräisin olevien hiukkasten stimuloinnin jälkeen.

**Esimerkki 1.81**

Sähköisten potilastietojen käyttöönoton lisääntyessä myös sellaisten pitkäaikaisten tietokokonaisuuksien saatavuus lisääntyy, jotka voisivat parantaa kansanterveyden seurantaa. Oletimme, että EMR-pohjaiset valvontajärjestelmät, jotka sisältävät kausivaihtelut ja muut pitkän aikavälin suuntaukset, havaitsisivat akuuttien hengitystieinfektioiden (ARI) puhkeamiset nopeammin kuin järjestelmät, jotka ottavat huomioon vain lähimenneisyyden. olosuhteet, SARIMA voisi lyhentää havaitsemisen viivettä 5-16 päivällä. Se oli myös herkempi havaitsemaan vuoden 2009 influenssapandemian kesäaallon. Pitkän aikavälin historiallisten EMR-tietojen aikasarjamallinnus voi lyhentää ARI-epidemioiden havaitsemiseen kuluvaa aikaa. Realistiset valvontasimulaatiot voivat osoittautua korvaamattomiksi järjestelmän suunnittelun ja virittämisen optimoinnissa.

**Tulos**

Voivatko sähköisistä sairauskertomuksista saadut pitkän aikavälin historiatiedot parantaa akuuttien hengitystieinfektioiden epidemioiden seurantaa? Systemaattinen arviointi

**Esimerkki 1.82**

Ihmisen suoliston maltaasi (HMA) on α-glukosidaasi, joka vastaa α-1,4-sidosten hydrolyysistä malto-oligosakkaridien pelkistämättömästä päästä. HMA:sta on tullut tärkeä kohde tyypin 2 diabeteksen hoidossa. Tässä tutkimuksessa epigallokatekiinigallaatti (EGCG) ja EGCG-glukosidi (EGCG-G1) tunnistettiin HMA:n estäjiksi in vitro -määrityksessä, joiden IC 50 oli 20 ± 1,0 ja 31,5 ± 1,0 µM. Lineweaver-Burk-kaavio vahvisti, että EGCG ja EGCG-G1 olivat maltoosisubstraatin kilpailevia inhibiittoreita HMA:ta vastaan, ja Dixon-kaavion perusteella lasketut inhibitiokiinteydet (K i ) olivat 5,93 ± 0,26 ja 7,88 ± 0,57 µM. Sekä EGCG että EGCG-G1 sitoutuivat HMA:n aktiiviseen kohtaan lukuisilla hydrofobisilla ja vetysidosvuorovaikutuksilla.

**Tulos**

Epigallokatekiinigallaatin ja sen glukosidin estävät vaikutukset ihmisen suoliston maltaasin estoon

**Esimerkki 1.83**

Ihmisen hengitysteiden koronavirusta OC43 kasvatettiin ihmisen peräsuolen kasvainsolulinjalla, ja se leimattiin isotooppisesti aminohapoilla, glukosamiinilla ja ortofosfaatilla virionien rakenneproteiinien analysoimiseksi. Neljä pääproteiinilajia erotettiin elektroforeesilla, ja monet niiden ominaisuuksista johdettiin proteolyyttisten entsyymien avulla tehdyistä sulatustutkimuksista. Nämä neljä proteiinia ovat: (1) 190 kDa:n proteiini, oletettu peplomeerinen proteiini, joka oli glykosyloitunut ja jonka trypsiini pystyi pilkkomaan proteolyyttisesti 110 ja 90 kDa:n alayksiköiksi. Alayksiköt edustavat peptidikartoituksen perusteella kukin eri aminohapposekvenssiä; (2) 130 kDa:n proteiini, joka oli glykosyloitunut ja käyttäytyi 65 kDa:n molekyyleistä koostuvana disulfidisidoksisena dimeerinä. Se on ilmeinen virion hemagglutiniini trypsiinillä, bromelainilla ja pronaasilla tehtyjen pilkkomistutkimusten perusteella; (3) 55 kDa:n nukleokapsidiproteiini, joka oli fosforyloitu; (4) 26 kDa:n matriisiproteiini, joka oli glykosyloitu. Näin ollen 190, 130, 55 ja 26 kDa:n lajit voidaan nimetä vastaavasti P-, H-, N- ja M-lajiksi. Niiden moolisuhteet ovat 4 : 1 : 33 : 33, ja niitä on laskennallisesti 88, 22, 726 ja 726 molekyyliä virionia kohti. human respiratory coronovirus 0C43, structural proteins 0168-1702/86/$03.50 0 1986 Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division).

**Tulos**

Ihmisen hengitysteiden koronaviruksen 0C43 rakenneproteiinit

**Esimerkki 1.84**

Ihmisen mikrosatelliitti-DNA:ta jäljittelevää ODN:ää (MS ODN), joka koostuu CCT-toistoista ja jota kutsutaan nimellä SAT05f, on tutkittu sen vuoksi, että se kykenee säätelemään negatiivisesti TLR7/TLR9-agonistien indusoimaa synnynnäistä immuniteettia in vitro ja hiirissä. Tulos osoitti, että SAT05f pystyi alentamaan TLR7/9-riippuvaista IFN-α-tuotantoa viljellyissä ihmisen PBMC:ssä, joita stimuloitiin inaktivoidulla influenssavirus PR8:lla tai HSV-1:llä tai CpG ODN:llä tai imikimodilla, ja suojelemaan D-GalN-käsiteltyjä hiiriä tappavalta shokilta, jonka aiheutti TLR9-agonisti, mutta ei TLR3/4-agonisti. Lisäksi SAT05f estää merkittävästi IFN-α:n tuotantoa puhdistetuista ihmisen plasmasytoidisoluista (pDC), joita on stimuloitu CpG ODN:llä. Mielenkiintoista on, että SAT05f pystyi in vitro säätelemään CD80-, CD86- ja HLA-DR-arvoja pDC-soluissa, mikä viittaa siihen, että SAT05f:n välittämä IFN-α-tuotannon esto voisi liittyä pDC-solujen aktivoitumiseen. Tiedot viittaavat siihen, että SAT05f:ää voitaisiin kehittää lääkekandidaattina TLR7/9-aktivaatioon liittyvien sairauksien hoitoon estämällä TLR7/9-signalointireittejä.

**Tulos**

Ihmisen mikrosatelliitti-DNA:ta jäljittelevä oligodeoksinukleotidi, jossa on CCT-toistoja, säätelee negatiivisesti TLR7/9-välitteisiä synnynnäisiä immuunivasteet valittujen TLR-reittien kautta

**Esimerkki 1.85**

Transkromosomiset naudat (Tc-rotuiset naudat) tuottavat adaptiivisesti täysin ihmisen polyklonaalisia immunoglobuliini (Ig)G-vasta-aineita altistuttuaan immunogeeniselle antigeenille (antigeeneille). National Interagency Confederation for Biological Research ja sen yhteistyökumppanit tuottivat nopeasti ja arvioivat ebolaviruksen IgG-immunoglobuliineja (yhteisnimitys SAB-139), jotka on puhdistettu Tc-nautojen plasmasta sen jälkeen, kun ne oli peräkkäin hyperimmunisoitu Ebola-viruksen Makona-isolaatin glykoproteiini-nanohiukkasrokotteella. SAB-139:ää karakterisoitiin useilla in vitro -tuotanto-, tutkimus- ja kliinisen tason testeillä, joissa käytettiin villiä Makona-C05-tyyppiä tai eri Ebola-virusvarianttien rekombinantti-virusta/antigeenejä. SAB-139 aktivoi voimakkaasti luonnollisia tappajasoluja, monosyyttejä ja perifeerisen veren mononukleaarisia soluja, ja sillä on korkea sitoutumisen aviditeetti, joka osoitettiin pintaplasmoniresonanssilla. SAB-139:ssä on samankaltaisia galaktoosi--α-1,3-galaktoosihiilihydraattipitoisuuksia kuin ihmisestä peräisin olevassa laskimonsisäisessä Ig:ssä, ja IgG1-alaluokan vasta-aine on vallitseva. Kaikki Ebola-viruksella/H.sapiens-tc/GIN/2014/Makona-C05 infektoidut rhesusmakakit, joita hoidettiin riittävästi SAB-139:llä 1 päivän (n = 6) tai 3 päivän (n = 6) kuluttua infektiosta, jäivät eloon, kun taas 0 % kontrolleista. Tämä tutkimus osoittaa, että Tc-boviinit voivat tuottaa patogeenispesifistä Ig:tä ihmiselle potilaiden ennaltaehkäisemiseksi ja/tai hoitamiseksi, kun uusi tartuntatauti uhkaa tai siitä tulee epidemia.

**Tulos**

The Journal of Infectious Diseases Täysin ihmisen immunoglobuliini G transkromosomisista nautaeläimistä hoitaa ebolaviruksen Makona-isolaatilla tartunnan saaneita kädellisiä.

**Esimerkki 1.86**

Tässä tutkimuksessa tutkitaan kiinteistöarvopaperikuplia ja -romahduksia käyttämällä dynaamista matemaattista menetelmää, joka on kehitetty aiemmasta tutkimuksesta (Watanabe et al. 2007a, b [31,32]). Parannettua mallia käytetään kuplan ja romahduksen havaitsemiseen viidessä kansainvälisessä maassa/kaupungissa (nimittäin . Tämän mallin määritelmän avulla pystymme havaitsemaan kunkin kuplakauden alun jo ennen sen puhkeamista. Samalla empiiriset tulokset osoittavat, että useimmat kiinteistöarvopaperimarkkinat kokivat kuplakauden vuosina 2003-2007, ja romahdukset tapahtuivat huhtikuussa 2008 Yhdysvaltojen subprime-asuntolainakriisin laukaisemana. Sen sijaan Japanissa kupla-aika oli lyhyin, eikä siellä ole todisteita romahduksesta.

**Tulos**

Physica A Dynaaminen matemaattinen testi kansainvälisistä kiinteistöarvopaperikuplista ja -romahduksista

**Esimerkki 1.87**

Monosyytit ovat luuytimestä peräisin olevien solujen heterogeeninen populaatio, joka rekrytoidaan infektio- ja tulehduspaikoille monissa ihmisen sairauksien malleissa, mukaan lukien keskushermoston (CNS) sairaudet. Ly6C hi / CCR2 hi -tulehdusmonosyytit on tunnistettu aivojen makrofagien, dendriittisolujen ja luultavasti mikroglian kiertäviksi esiasteiksi kokeellisessa autoimmuuni enkefalomyeliitissä, Alzheimerin taudissa, aivohalvauksessa ja viime aikoina Herpes simplex -viruksen, hiiren hepatiittiviruksen, Theilerin hiiren enkefalomyeliittiviruksen, japanilaisen enkefaliittiviruksen ja Länsi-Niilin viruksen aiheuttamassa keskushermoston infektiossa. Tulehduksellisista monosyyteistä peräisin olevien populaatioiden tarkat erilaistumisreitit ja tehtävät tulehtuneessa keskushermostossa ovat edelleen kiistanalainen kysymys, erityisesti monosyyteistä peräisin olevien mikroglioiden olemassaolon osalta. Lisäksi monosyyttiperäisten alaryhmien osuutta viruksen puhdistumisessa ja immunopatologiassa ei ole tarkkaan määritelty. Näin ollen on ratkaisevan tärkeää ymmärtää, mitä kautta tulehdukselliset monosyytit siirtyvät aivoihin ja mikä on niiden toimintakyky keskushermostossa, jotta voidaan antaa tietoa tulevista hoitostrategioista. Tässä katsauksessa käsitellään joitakin keskeisiä näkökohtia, jotka liittyvät tulehduksellisten monosyyttien siirtymiseen aivoihin, ja käsitellään näiden solujen roolia virusenkefaliitissa.

**Tulos**

Tulehdukselliset monosyytit ja virusenkefaliitin patogeneesi

**Esimerkki 1.88**

Kawasakin taudin (KD), joka on johtava lasten hankittujen sydänsairauksien syy, etiologiaa ei tällä hetkellä tunneta. Epidemiologia tukee KD:n yhteyttä tartuntatautiin. Useita patologisia mekanismeja pidetään mahdollisena, mukaan lukien superantigeenivaste, infektioperäisen etiologian suora invaasio tai autoimmuuni-ilmiö. Sairastuneiden potilaiden hoitaminen suonensisäisellä immunoglobuliinilla vähentää tehokkaasti sepelvaltimoiden aneurysmien määrää. B-solujen ja vasta-aineiden rooli KD:n patogeneesissä on kuitenkin edelleen epäselvä. Hiirimalleissa ei ole selvää, mikä on B-solujen ja vasta-aineiden rooli patogeneesissä. Harvinaisia aneurysmanäytteitä koskevissa tutkimuksissa on havaittu plasmasolujen infiltraatioita. Näistä aneurysman plasmasolujen infiltraateista tuotetut vasta-aineet osoittivat ristireaktiota useiden KD:tä sairastavien lasten patologisten näytteiden keuhkoputkien epiteelissä oleviin solunsisäisiin sulkeumiin. Nämä vasta-aineet eivät ole määritelleet etiologiaa. KD:tä sairastavilla lapsilla on raportoitu useita autovasta-aineita. Viimeaikaiset tutkimukset osoittavat, että akuutit B-soluvasteet ovat samanlaisia KD:tä sairastavilla lapsilla kuin infektioita sairastavilla lapsilla, mikä tukee entisestään KD:n infektiosyyn olemassaoloa. Seuraavassa tarkastelemme ja keskustelemme kirjallisuuden epäjohdonmukaisuuksista, jotka liittyvät B-soluvasteisiin, spesifisiin vasta-aineisiin ja humoraalisen immuniteetin mahdolliseen rooliin KD:n patogeneesissä tai diagnosoinnissa.

**Tulos**

Molekulaaritieteiden katsaus B-solut ja vasta-aineet Kawasakin taudissa

**Esimerkki 1.89**

Vuonna 2012 Arabian niemimaalla ilmaantui uusi koronavirus (CoV), joka liittyy vakavaan hengitystiesairauteen, Lähi-idän hengitystieoireyhtymään (MERS-CoV; aiemmin tunnettu nimellä human coronavirus-Erasmus Medical Center tai hCoV-EMC). Tähän mennessä on raportoitu 114 MERS-CoV-tapausta, joissa 54 ihmistä on kuollut. MERS-CoV:n patogeneesin selvittämiseksi sekä rokotteiden ja viruslääkkeiden kehittämiseksi tarvitaan eläinmalleja ihmisten MERS-CoV-infektiolle. Tässä tutkimuksessa kehitimme rhesusmakakkeja MERS-CoV:n malliksi käyttäen intratrakeaalista inokulaatiota. Tartunnan saaneilla apinoilla ilmeni kliinisiä taudin oireita, viruksen replikaatiota, histologisia vaurioita ja neutraloivien vasta-aineiden tuotantoa, mikä osoittaa, että tämä apinamalli soveltuu MERS-CoV-infektion tutkimiseen.

**Tulos**

MERS-viruksen eläinmalli, joka on tuotettu tartuttamalla Rhesusmakakit MERS-koronaviruksella.

**Esimerkki 1.90**

Virusinfektion lopputulos riippuu isäntätekijöiden ja ympäristön välisestä vuorovaikutuksesta. Isäntätekijät, kuten virusreseptorien ilmentyminen, välittävät infektion sallivuutta, määrittelevät trooppisuuden, säätelevät virusta vastaan suunnattuja immuunivasteet, määrittävät viruksen puhdistumisen ja leviämisen. Myös isännän mikrobisto, eli organismin mikrobien muodostama kokonaisuus, on avainasemassa infektion lopputuloksen kannalta. Mikrobit ja mikrobituotteet voivat olla suorassa vuorovaikutuksessa virushiukkasten kanssa. Käsityksemme siitä, miten mikrobisto vaikuttaa virusinfektioon, rajoittuu suurelta osin mikrobiston bakteerikomponenttiin. Vaikka bakteerit eivät tue eukaryoottista virusinfektiota, ne voivat edistää viruksen kuntoa parantamalla virionien stabiilisuutta, edistämällä eukaryoottisten solujen infektiota ja lisäämällä samanaikaista infektiota. Bakteerien virukseen sitoutuminen voi myös vaikuttaa bakteerien biologiaan, mukaan lukien bakteerien kiinnittyminen eukaryoottisiin soluihin. Nämä vuorovaikutukset voivat myös epäsuorasti vaikuttaa isännän vasteeseen virusinfektioon. Tässä helmessä keskitymme siihen, miten virusten ja bakteerien väliset suorat ja epäsuorat vuorovaikutukset vaikuttavat virusten biologiaan, ja käsittelemme viimeaikaisia havaintoja, jotka osoittavat, miten vuorovaikutukset eukaryoottisten virusten kanssa voivat vaikuttaa myös bakteerien biologiaan (kuva 1) .

**Tulos**

Virusten vuorovaikutus bakteerien kanssa: Yhteistyökumppanit tarttuvassa tanssissa

**Esimerkki 1.91**

Huolimatta intensiivisestä meneillään olevasta tutkimuksesta Isossa-Britanniassa vuonna 2001 esiintyneen suu- ja sorkkatautiepidemian alueellisen ja ajallisen kehityksen keskeiset osatekijät ovat edelleen selittämättä. Tässä tutkimuksessa kehitetään Markov Chain Monte Carlo (MCMC) -menetelmä vuoden 2001 taudinpurkauksen epidemiologisten parametrien arvioimiseksi useille yksinkertaisille leviämismalleille. Teemme yksinkertaistavan oletuksen, että tartunnan saaneita tiloja havaittiin vuonna 2001 kokonaan, mikä vastaa oletusta, että tilat, jotka teurastettiin ennakoivasti mutta joilla ei todettu suu- ja sorkkatautia, eivät olleet tartunnan saaneita, vaikka jotkut tilat olivatkin tartunnan saaneita. Arvioimme, miten tartuntaparametrit vaihtelivat ajan mittaan, mikä korostaa valvontatoimenpiteiden vaikutusta epidemian etenemiseen. Osoitamme tilastollisesti merkitsevää näyttöä saman lajin eläinten välisestä assortatiivisesta kosketuksesta. Sovitetuille malleille esitetään ennustavat riskikartat tartuntamahdollisuuksista eri maantieteellisillä alueilla Britanniassa.

**Tulos**

Vuoden 2001 suu- ja sorkkatautiepidemian siirtoparametrit Isossa-Britanniassa.

**Esimerkki 1.92**

Kaksi kotikissan päähistokompatibiliteettikompleksin (MHC) alueen sekvenssiä, 2,976 ja 0,362 Mbps, jotka erottaa toisistaan muinainen kromosomikatkos (55-80 MYA) ja joita seuraa kromosomi-inversio, annotoitiin yksityiskohtaisesti. Tämän MHC:n geeniannotaatio saatiin valmiiksi, ja siinä tunnistettiin 183 mahdollista koodaavaa aluetta, 147 ihmisen homologia, mahdollisia funktionaalisia geenejä ja 36 pseudo/tunnistamatonta geeniä) GENSCAN- ja BLASTN-, BLASTP RepeatMasker-ohjelmilla. Ensimmäinen alue käsittää 2,976 Mbp:n sekvenssin, joka koodaa kuutta klassista luokan II antigeenia (kolme DRA- ja kolme DRB-antigeenia), joista puuttuvat toiminnalliset DP- ja DQ-alueet, yhdeksän antigeenin prosessointimolekyyliä (DOA/DOB, DMA/DMB, TAPASIN ja LMP2/LMP7, TAP1/TAP2), 52 luokan III geeniä, 19 luokan I geeniä/geenifragmenttia (FLAI-A-FLAI-S). Kolme luokan I geeniä (FLAI-H, I-K, I-E) saattaa koodata funktionaalisia klassisia luokan I antigeenejä aminohapposekvenssin ja promoottorirakenteen perusteella. Toinen alue käsittää 0,362 Mbp:n sekvenssin, joka ei koodaa yhtään luokan I geeniä ja 18 lajien välistä konservoitunutta geeniä, lukuun ottamatta luokan I ja II geenejä ja niiden funktionaalisesti sukulaisia/assosioituneita geenejä, eli kehysgeenejä, mukaan lukien kolme hajureseptorigeeniä. Yksi aiemmin tunnistettu kissan endogeeninen retrovirus, paviaanin retroviruksesta johdettu sekvenssi (ECE1) ja kaksi uutta endogeenista retrovirussekvenssiä, jotka muistuttavat ruskean lepakon endogeenista retrovirusta (FERVmlu1, FERVmlu2), löydettiin 140 kilotavun pituisesta jaksosta luokan I alueen keskeltä. MHC:n SNP:tä tutkittiin tämän BAC-sekvenssin ja MHC:n homotsygoottisten 1,96WGS-sekvenssien vertailun perusteella, ja todettiin, että 11 654 SNP:tä 2,84 Mbp:ssä (0,00411 SNP:tä bp:tä kohti), mikä on 2,4 kertaa korkeampi määrä kuin keskimääräinen heterotsygoottinen alue WGS:ssä (0,0017 SNP:tä bp:tä kohti genomissa) ja hieman korkeampi kuin ihmisen MHC:ssä havaittu SNP:n määrä (0,00337 SNP:tä bp:tä kohti).

**Tulos**

Kotikissan päähistokompatibiliteettikompleksin sekvenssit, merkinnät ja yksittäisten nukleotidien polymorfismi.

**Esimerkki 1.93**

Koronaviruksen tarttuva keuhkoputkentulehdusvirus (IBV) koodaa trypsiinin kaltaista proteinaasia (3C-kaltainen proteinaasi) ORF 1a:lla, jolla on osoitettu olevan keskeinen rooli geenin 1 koodattujen polyproteiinien proteolyyttisessä prosessoinnissa. Aiemmissa tutkimuksissamme proteinaasi tunnistettiin 33 kDa:n proteiiniksi IBV-infektoituneissa soluissa, ja sen katalyyttisen keskuksen osoitettiin koostuvan H 2820- ja C 2922 -jäämistä. Se irtoaa 1a ja 1a/1b-polyproteiineista autoprosessoimalla kahdessa Q-S-dipeptidisidoksessa (Q 2779 -S 2780 ja Q 3086 -S 3087 ). Tässä raportissa näiden kahden pilkkoutumiskohdan tarkempi karakterisointi osoittaa, että N-terminaalinen Q 2779 -S 2780 -kohta kestää mutaatioita P1-asemassa. Proteinaasin C-terminaalisen alueen poistaminen osoittaa, että merkittävä osa entsymaattisesta aktiivisuudesta säilyy, kun poistetaan jopa 67 aminohappoa, mikä viittaa siihen, että äärimmäinen C-terminaalinen alue voi olla välttämätön proteinaasin proteolyyttisen aktiivisuuden kannalta. Autoprosessointikinetiikan analyysi in vitro osoittaa, että proteolyysi kohdassa Q 2779 -S 2780 on ensimmäinen proteinaasin välittämä pilkkoutumistapahtuma. Tätä seuraa pilkkoutuminen Q 3086 -S 3087 -kohdassa. Molempien pilkkoutumistapahtumien esiintyminen ehjissä soluissa on mahdollisesti nopeaa ja tehokasta, sillä IBV-infektoiduissa tai transfektoiduissa soluissa ei havaittu proteinaasia peittäviä pilkkoutumisen välituotteita. Immunofluoresenssimikroskopia- ja alisolufraktiointitutkimukset osoittavat lisäksi proteinaasin erilaista alisoluista lokalisaatiota IBV-infektoiduissa soluissa ja soluissa, jotka ilmentävät pelkkää 3C:n kaltaista proteinaasia, mikä viittaa siihen, että tällä proteiinilla saattaa olla muita tehtäviä viruksen replikaatiossa. Lopuksi osoitettiin, että nukleotidien 10,663-10,668 koodaama Q-A (Q 3379 -A 3380 ) dipeptidisidos on proteinaasin pilkkomiskohta.

**Tulos**

Koronaviruksen infektiivisen bronkiittiviruksen 3C:n kaltaisen proteinaasin tarkempi karakterisointi ja uuden pilkkoutumiskohdan määrittäminen.

**Esimerkki 1.94**

Ihmisen immuunikatovirustyypin 1 (HIV-1) tatilla on tärkeä rooli HIV:n aiheuttamassa neuropatogeneesissä, jonka taustalla olevat mekanismit ovat edelleen kehittymässä. Olemme äskettäin osoittaneet, että HIV-1 Tat indusoi gliafibrillaarisen happaman proteiinin (GFAP) ilmentymistä, mikä on tyypillistä keskushermoston (CNS) HIV-1-infektiolle. Olemme myös osoittaneet, että Tatin aiheuttamaa GFAP:n ilmentymistä astrosyyteissä säätelee p300 ja että p300-promoottorissa olevan varhaisen kasvuvasteen 1 (Egr-1) cis-transaktioelementin poistaminen poistaa Tatin aiheuttaman GFAP:n ilmentymisen. Tässä tutkimuksessa tarkastelimme edelleen Tatin ja Egr-1:n välistä suhdetta astrosyyteissä. Löysimme lisääntynyttä Egr-1-proteiinin ilmentymistä Tatia ilmentävissä ihmisen astrosytoomasoluissa ja hiiren primaarisissa astrosyyteissä. Käyttämällä Egr-1-promoottorilla ohjattua tulikärpäslukiferaasi-reportterigeenimääritystä ja sitedirected mutagenesis -menetelmää osoitimme, että Tat lisäsi Egr-1-ekspressiota transaktivoimalla Egr-1-promoottorin ja ottamalla mukaan spesifiset seerumivaste-elementit (SRE) promoottorin sisällä. Näiden tietojen mukaisesti osoitimme, että Egr-1:n promoottorin transaktivaatio Tatin avulla kumoutui, kun astrosyyttejä viljeltiin seerumiredusoidussa väliaineessa. Kaiken kaikkiaan nämä tulokset paljastavat, että Tat aktivoi suoraan Egr-1:n ekspressiota ja viittaavat siihen, että Tatin vuorovaikutus Egr-1:n kanssa on todennäköisesti yksi niistä molekyylitapahtumista, jotka käynnistävät Tatin aiheuttaman astrosyyttien toimintahäiriön ja sitä seuraavan Tatin neurotoksisuuden.

**Tulos**

Egr-1:n ilmentymisen aktivoituminen astrosyyteissä HIV-1 Tatin vaikutuksesta: uutta tietoa astrosyyttien välittämästä Tatin neurotoksisuudesta.

**Esimerkki 1.95**

Taustaa: Hevosten koronavirusta (ECoV) pidetään varsojen ripulia aiheuttavana patogeenina. Kentuckyn keskiosassa Yhdysvalloissa on osoitettu, että noin 30 prosentilla täysiverisistä varsoista on ECoV-tartunta, joten sitä pidetään laajalti levinneenä. Sen sijaan ECoV:n epidemiologia ja sen yhteys varsojen ripuliin tunnetaan Japanissa huonosti. Tutkimme ECoV:tä Japanissa täysiverisistä varsoista kerätyistä peräsuolen pyyhkäisynäytteistä. Keräsimme 337 peräsuolen pyyhkäisynäytettä 307:stä ripuloivasta varsasta Hidakan alueella Hokkaidossa, Japanin suurimmalla täysiveristen hevosten kasvatusalueella, vuosina 2012-2014. Lisäksi 120 peräsuolen pyyhkäisynäytettä kerättiin 120 terveeltä varsalta vuonna 2012. Nämä näytteet testattiin käänteisellä transkriptiosilmukkavälitteisellä isotermisellä monistuksella ja reaaliaikaisella käänteisellä transkriptiopolymeraasiketjureaktiolla. Kaikki ripuloivista varsoista kerätyt näytteet olivat negatiivisia, ja vain kolme terveistä varsoista kerättyä näytettä (2,5 %) oli positiivisia ECoV:n suhteen. Kentuckyn keskiosaan verrattuna ECoV ei ole yleinen täysiveristen varsojen keskuudessa Hidakan alueella Hokkaidossa.

**Tulos**

Hevosen koronaviruksen alhainen esiintyvyys varsoilla Japanin suurimmalla täysiveristen hevosten jalostusalueella vuosina 2012-2014.

**Esimerkki 1.96**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli analysoida veren maitohappotasojen, hapetusindeksin ja C-reaktiivisen proteiinin (CRP) tasojen dynaamisen seurannan kliinistä merkitystä potilailla, joilla on vaikea keuhkokuume. Tutkimuksessa kerättiin kliiniset tiedot 34:stä vakavaa keuhkokuumetta sairastavasta potilaasta. Kliinisen lopputuloksen mukaan potilaat jaettiin selviytymisryhmään (n=26) ja kuolemaan johtaneeseen ryhmään (n=8). Erilaisia tekijöitä, kuten veren maitohappopitoisuus, hapetusindeksi, CRP-taso ja APACHE II (acute physiology and chronic health evaluation II) -pisteet, analysoitiin takautuvasti sen selvittämiseksi, oliko näillä arvoilla kliinistä merkitystä potilaiden ennusteen kannalta. Iän, sukupuolen, veren maitohapon ja CRP:n alkupitoisuuksien ja APACHE II -pisteiden välillä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja näiden kahden ryhmän välillä teho-osastolle tullessa. Veren maitohappopitoisuuksien havaittiin kuitenkin laskevan normaalille tasolle 12-24 tunnin kuluessa hoidon jälkeen eloonjäämisryhmässä, kun taas kuolemaan johtaneessa ryhmässä pitoisuudet pysyivät korkeampina jopa 72 tunnin kuluttua hoidosta (P<0,05). Lisäksi hapetusindeksi oli eloonjäämisryhmässä merkittävästi korkeampi verrattuna kuolemaan johtaneen ryhmän indeksiin. Hapetusindeksi säilyi normaalilla tasolla eloonjäämisryhmässä, kun taas hapetusindeksin tasot olivat normaalia alhaisemmat ja jatkoivat laskuaan kuolemaan johtaneessa ryhmässä. Veren maitohappotason ja APACHE II -pisteiden välillä havaittiin positiivinen korrelaatio (r=0,656, P<0,05). Näin ollen tämä tutkimus osoitti, että vakavaa keuhkokuumetta sairastavien potilaiden veren maitohappo-, hapetusindeksi- ja CRP-tasojen dynaamista seurantaa voidaan käyttää hoidon tehokkuuden arvioimiseen sen lisäksi, että se toimii ennusteindikaattorina vakavaa keuhkokuumetta sairastaville potilaille.

**Tulos**

Veren maitohapon, hapetusindeksin ja C-reaktiivisen proteiinin pitoisuuksien dynaamisen seurannan kliininen merkitys vaikeaa keuhkokuumetta sairastavilla potilailla.

**Esimerkki 1.97**

Ylempien hengitysteiden infektiot ovat merkittävä sairastuvuuden aiheuttaja laulutaiteen ammattilaisten keskuudessa, koska ne heikentävät akuutisti äänimekanismia ja altistavat vakavien ääniongelmien kehittymiselle. Tässä katsauksessa esitellään joitakin tärkeimpiä piirteitä nykyisin saatavilla olevista hoidoista, jotka tehoavat influenssaan, joka on vakavimman virustautimuodon aiheuttava virusperhe. Tällä hetkellä näihin kuuluvat inaktivoitu rokote ja neljä viruslääkettä, jotka on hyväksytty Yhdysvalloissa ja monissa muissa maissa influenssan ehkäisyyn ja hoitoon. Saatavilla on myös elävä heikennetty rokote, ja muita rokotteita ja viruslääkkeitä kehitetään parhaillaan. Tässä katsauksessa selvitetään yksityiskohtaisesti nykyiset vaihtoehdot sekä influenssan että muiden kuin influenssaan liittyvien virtsatietulehdusten hoitamiseksi ammattimaisen äänenkäyttäjän keskuudessa.

**Tulos**

Influenssa ja laulaja: Influenssa: Päivitys ennaltaehkäisystä ja hoidosta

**Esimerkki 1.98**

Olemme tutkineet ribonukleotidien ja ribonukleotiditrifosfaatin hydrolyysin tarvetta kahden kalvoproteiinin, vesicular stomatitis -viruksen G-proteiinin ja Newcastlen tautiviruksen hemagglutiniini-neuraminidaasi (HN)-glykoproteiinin, kalvointegraation varhaisissa tapahtumissa. Molemmissa proteiineissa on yksi transmembraaninen segmentti, mutta ne integroituvat kalvoon vastakkaiseen suuntaan. G-proteiinilla on aminoterminaalinen signaalisekvenssi ja karboksiterminaalin lähellä sijaitseva stop-siirtosekvenssi. HN-glykoproteiinilla on yksi ainoa sekvenssi lähellä aminoterminaalia, joka toimii sekä signaalisekvenssinä että transmembraanin ylittävänä segmenttinä. Membraaniinsiirtymistä tutkittiin soluvapaassa järjestelmässä, jota ohjattiin näiden kahden proteiinin aminoterminaalisia segmenttejä koodaavilla transkriptoiduilla mRNA:illa. Ribosomiin sidotut nasentit polypeptidit koottiin, ribonukleotidit poistettiin geelisuodatuksella.

**Tulos**

Kalvoproteiinien integroituminen endoplasmiseen retikulumiin vaatii GTP:tä.

**Esimerkki 1.99**

soluja) rakennettiin. Sitten MDBK-, GFP-LC3-MDBK- ja shBCN1-MDBK-solut infektoitiin CP- tai NCP-BVDV-kannoilla. LC3-II:n vaihtumisnopeus arvioitiin western blotilla, autofagosomit visualisoitiin konfokaalimikroskopialla ja ultrastruktuurianalyysi tehtiin elektronimikroskopialla. Autofagivirtausta havainnoitiin käyttämällä klorokiinia autofagisen prosessin estäjänä. Autofagian vaikutusta BVDV:n replikaatioon ja vapautumiseen tutkittiin virustitrauksen avulla, ja sen vaikutusta solujen elinkelpoisuuteen tutkittiin myös. BVDV:n aiheuttaman autofagian vaikutusta BVDV-infektoituneen isäntäsolun eloonjäämiseen, solujen apoptoosiin ja interferonin (IFN) signalointiin tutkittiin virtaussytometrisellä analyysillä ja kvantitatiivisella RT-(q)PCR:llä käyttäen shBCN1-MDBK-soluja. havaitsimme, että infektio joko CP- tai NCP-BVDV-kannoilla indusoi tasaista autofagiaa MDBK-soluissa, mikä näkyi kaksois- tai yksimembraanisten vesikkelien lisääntyneenä lukumääränä, GFP-mikrotubulus-assosioituneen proteiini 1:n kevytketju 3:n (LC3) pisteiden kerääntymisenä ja LC3-I:n (sytosolisen) muuntumisena LC3-II:ksi (kalvoon sitoutuneeksi). Täydellinen autofaginen prosessi todennettiin seuraamalla LC3-II:n liikevaihtosuhdetta, lysosomaalista toimitusta ja proteolyysiä. Lisäksi havaitsimme, että CP- ja NCP-BVDV:n kasvu estyi MDBK-soluissa, joita käsiteltiin suurilla määrillä autofagian induktoria tai inhibiittoria, tai autofagian puutteellisissa MDBK-soluissa. Lisäksi tutkimuksemme viittasivat siihen, että CP- ja NCP-BVDV-infektio autofagiaa heikentävissä MDBK-soluissa lisäsi apoptoottista solukuolemaa ja lisäsi IFN-α:n, Mx1:n, IFN-β:n ja OAS-1:n mRNA:n ilmentymistä verrattuna kontrolli-MDBK-soluihin. Tutkimuksemme antaa vahvaa näyttöä siitä, että BVDV-infektio indusoi autofagiaa, joka helpottaa BVDV:n lisääntymistä MDBK-soluissa ja heikentää synnynnäistä immuunivastetta. Nämä havainnot saattavat auttaa havainnollistamaan BVDV:n aiheuttaman pysyvän infektion patogeneesiä. Tiivistelmä Naudan virusripulivirus (BVDV) on tärkeä nautakarjan patogeeni, jolla on monimutkainen rooli taudeissa. BVDV:llä on kaksi biotyyppiä: ei-sytopaattinen (NCP) ja sytopaattinen (CP). Yksi strategia, jota on käytetty virukseen liittyvien sairauksien hoitoon tai ehkäisyyn, on autofagian modulointi, jota synnynnäinen immuunijärjestelmä käyttää virustartuntoja vastaan puolustautumiseen; tällä hetkellä autofagian ja BVDV:n välinen vuorovaikutus on kuitenkin edelleen epäselvä. Madin-Darby naudan munuaissolut, jotka ilmentävät vakaasti mikrotubulukseen assosioituneen proteiinin 1 kevytketju 3B:tä (LC3B) vihreällä fluoresoivalla proteiinilla (GFP) (GFP-LC3-MDBK-solut), ja autofagiapuutteiset MDBK-solut (shBCN1-MDBK Yulong Zhou ja Yachao Ren ovat osallistuneet yhtä paljon tähän työhön.

**Tulos**

Nautojen virusripulivirusinfektion aiheuttama autofagia torjuu apoptoosia ja synnynnäisen immuunijärjestelmän aktivoitumista.

**Esimerkki 1.100**

Alankomaiden MERS-CoV-epidemian tutkintaryhmän jäsenten puolesta Tiivistelmä Tausta: Toukokuussa 2014 diagnosoitiin Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirusinfektio (MERS-CoV), jolla on läheistä sukua oleva virusgenomi, kahdella alankomaalaisella, jotka olivat palanneet pyhiinvaellusmatkalta Medinasta ja Mekasta, Saudi-Arabian kuningaskunnasta (KSA). Nämä potilaat matkustivat 29 muun hollantilaisen matkustajan kanssa. Suoritimme matkaryhmän epidemiologisen arvioinnin selvittääksemme tartunnan todennäköisen lähteen tai lähteet ja mahdolliset riskitekijät. Menetelmät: Kaikki matkustajat, mukaan lukien kaksi tapausta, täyttivät kyselylomakkeen, jossa keskityttiin mahdollisiin ihmis-, eläin- ja elintarvikealtistuksiin MERS-CoV:lle. Kyselylomaketta muokattiin WHO:n MERS-CoV-kyselylomakkeesta ottaen huomioon matkustajaryhmän erityinen reitti ja toiminta. Tulokset: Kaksitoista ei-tapausta joi pastöroimatonta kamelinmaitoa ja oli kosketuksissa kameleihin. Useimmat matkustajat, mukaan lukien toinen kahdesta potilaasta (tapaus 1), kävivät paikallisilla markkinoilla, joilla kuusi heistä söi hedelmiä. Kaksi matkustajaa, mukaan lukien tapaus 1, altistui yskiville potilaille vieraillessaan sairaalassa Medinassa. Neljä matkustajaa, mukaan lukien tapaus 1, vieraili kahdessa sairaalassa Mekassa. Kaikki matkustajat olivat olleet tekemisissä tapauksen 1 kanssa, kun tämä oli sairastunut, ja hänellä oli aluksi muita kuin hengitystieoireita. Tapausten todettiin olevan muita matkustajia vanhempia, ja molemmilla oli samanaikaisia sairauksia. Päätelmät: Tämä epidemiologinen tutkimus paljasti MERS-CoV-epidemiatutkimusten monimutkaisuuden, sillä raportoitujen MERS-CoV:n monien mahdollisten altistumisten, kuten terveydenhuoltokäyntien, kamelialtistuksen ja käsittelemättömille elintarvikkeille altistumisen, vuoksi. Altistumista MERS-CoV:lle sairaalakäynnin aikana pidetään todennäköisenä tartunnan lähteenä tapauksen 1 osalta, mutta ei tapauksen 2 osalta. Tapauksen 2 todennäköisintä lähdettä ei voitu määrittää. Altistuminen MERS-CoV:lle suoran kosketuksen kautta eläimiin tai maitotuotteisiin vaikuttaa epätodennäköiseltä kahdessa alankomaalaisessa tapauksessa. Altistumista yleiselle, mutta vielä tunnistamattomalle lähteelle ei myöskään voida sulkea pois. MERS-CoV-tartuntojen ehkäisyn vahvistamiseksi ja täsmentämiseksi tarvitaan kattavampaa tutkimusta tartuntalähteistä Arabian niemimaalla.

**Tulos**

Matkustamiseen liittyvät MERS-CoV-tapaukset: altistumisen ja riskitekijöiden arviointi ryhmässä hollantilaisia matkustajia, jotka palasivat Saudi-Arabian kuningaskunnasta toukokuussa 2014.

**Esimerkki 1.101**

Proteiinien ubikvitylaatio on tärkeä proteiinien toiminnan, lokalisoinnin ja puoliintumisajan säätelijä. Sillä on keskeinen rooli useimmissa soluprosesseissa, myös immuunisignaalien välityksessä. Tämän prosessin säätelyn häiriintyminen on merkittävä syy moniin sairauksiin. Ubikitiinia poistavien entsyymien, deubikvitylaasien (DUB:t), tunnistamisessa ja karakterisoinnissa on edistytty merkittävästi kehittämällä aktiivisuuspohjaisia koettimia (ABP:t). Viimeaikaiset edistysaskeleet kemiallisessa proteiinisynteesissä ja ligaatiomenetelmissä ovat tuottaneet uusia reagensseja käytettäväksi ubikvitylaatiotutkimuksessa. Kuvaamme viimeaikaisia edistysaskeleita ja keskustelemme tulevista suunnista reagenssien kehittämisessä DUB:ien tutkimiseksi.

**Tulos**

DUB:n kiinnijääminen: uudet ubikitiinipohjaiset aktiiviseen kohtaan suunnatut koettimet

**Esimerkki 1.102**

1990). Fundam. Appl. Toxicol. 15, 12 l-l 3 1. Vaikka otsonin aiheuttamia epiteelivaurioita in vivo on luonnehdittu morfologisesti, kaasumaisten hapettimien vaikutuksia hengitysteiden epiteeliin elinkulttuurissa, jossa kudosorganisaatio säilyy, mutta systeemiset vaikutukset eliminoidaan, ei ole tutkittu perusteellisesti. Tässä tutkimuksessa altistimme rottien henkitorven elinviljelmät 95-prosenttiselle hapelle ja 1 ppm otsonille. yksinään ja yhdessä sen määrittämiseksi, (1) ilmenevätkö epiteelin vasteet otsonille samanlaisina kuin in vivo havaitut vasteet hengitysteissä, jotka on erotettu systeemisistä fysiologisista, erittävistä ja tulehdusreaktioista; (2) johtavatko hapen pitoisuudet, jotka ovat riittäviä aiheuttamaan mahdollisen hapettumisvaurion, samanlaisiin morfologisiin epiteelimuutoksiin kuin otsonimyrkytyksen yhteydessä tapahtuvat muutokset; ja (3) aiheuttaako hapen ja otsonin yhdistetty hapettumisvaurio vakavampia vaurioita trakeaaliepiteelille kuin otsoni ilmassa. Henkitorven elinviljelmiä altistettiin 96 tunnin ajan suodatetulle ilmalle ja 5 % hiilidioksidille, suodatetulle ilmalle, 5 % hiilidioksidille ja 1 ppm otsonia, 95 % hapelle ja 5 % hiilidioksidille tai 95 % hapelle, 5 % hiilidioksidille ja 1 ppm otsonia. Valo- ja kvantitatiivinen elektronimikroskooppinen arviointi osoitti, että 1 ppm otsonia sisältävälle ilmalle altistetuissa epiteeleissä esiintyi sädesolujen häviämistä ja sädesolujen vaurioitumista. Epiteelit, jotka oli altistettu 95 prosentin hapelle ja 5 prosentin hiilidioksidipitoisuudelle, olivat pseudostratifioituneita, pylväsmäisiä, säikeisiä ja hyperplastisia. Epiteelit, jotka altistuivat 95 prosentin hapelle ja 1 ppm otsonia, olivat kerrostuneita ja silokotelottomia tai hyvin harvakseltaan silokoteloisia. Hapelle ja otsonille altistuneissa epiteeleissä vallitsevia solutyyppejä olivat seroosiset solut ja metaplastiset solut. ja paikoitellen esiintyi tarttuvien nekroottisten solujen aggregaatteja. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että hapen ja otsonialtistuksen välillä oli synergismi, joka johti epiteelin vaurioitumiseen ja metaplasiaan. 0 1990 Society ofToxicology.

**Tulos**

Rotan henkitorven epiteelin vaste otsoni- ja happialtistukseen in vitro

**Esimerkki 1.103**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) äkillinen ilmaantuminen on vauhdittanut tutkimusta, joka koskee synnynnäistä immuunivastetta koronaviruksille. Nyt on hyvin osoitettu, että aiheuttaja, äskettäin tunnistettu SARS-CoV-niminen koronavirus, käyttää useita passiivisia ja aktiivisia mekanismeja välttääkseen antiviraalisten tyypin I interferonien induktiota kudossoluissa. Sitä vastoin kemokiinit, kuten IP-10 tai IL-8, ovat voimakkaasti säänneltyjä. IFN-vasteen epätasapainon uskotaan edistävän viremian syntymistä infektion varhaisessa vaiheessa, kun taas tartunnan saaneiden elinten kemokiinituotanto voi olla vastuussa i) SARS-uhrien keuhkoissa havaituista massiivisista immuunisolujen infiltraatioista ja ii) adaptiivisen immuniteetin säätelyhäiriöstä. Seuraavassa tarkastelemme viimeisimpiä havaintoja SARS-CoV:n ja siihen liittyvien Coronaviridae-heimon jäsenten vuorovaikutuksesta tyypin I interferoni- ja sytokiinivasteiden kanssa ja keskustelemme vaikutuksista patogeneesiin ja hoitoon. #

**Tulos**

Interferoni- ja sytokiinivasteet SARS-koronavirusinfektiossa

**Esimerkki 1.104**

Työhön liittyvä mielenterveyden heikkeneminen on tunnustettu todelliseksi ongelmaksi, kun autetaan pelastushenkilöstöä, myös terveydenhuollon ammattilaisia, koska vakavien katastrofien jälkeen terveyshaitat ovat haitallisia. Itä-Japanin suuri maanjäristys, joka tapahtui 11. maaliskuuta 2011, oli ennennäkemättömän monimutkainen katastrofi, joka aiheutti ydinonnettomuuden Fukushima Daiichin ydinvoimalassa. Katastrofistressin ja päivittäisen työn lisäksi lääketieteen ja terveydenhuollon ammattilaiset, erityisesti sairaanhoitajat, tarjosivat neuvontapalveluja asukkaille, jotka olivat huolissaan säteilyn aiheuttamista terveysriskeistä tai mielenterveysongelmista. Tässä katsauksessa keskitytään monimutkaisen ydinkatastrofin, joka oli yhdistetty keinotekoinen ydinonnettomuus ja luonnonkatastrofi, psykologisiin näkökohtiin, ja tutkimme sairaalahoitajiin kohdistuvia psykologisia vaikutuksia, jotka liittyvät heidän kokemuksiinsa katastrofin aikana. Tutustuimme useisiin tutkimuksiin sairaanhoitajien mielenterveydestä ydinkatastrofin jälkeen ja muissa tilanteissa. Osoittautui, että sairaanhoitajien mielenterveyteen kohdistuu vaikutuksia paitsi ydinkatastrofin jälkeen myös muissa tilanteissa. Lisäksi huomasimme, että pitkäkestoisella raskaalla työtaakalla ja päivittäisellä elämisellä on vaikutuksia. Säteilyaltistuksen aiheuttaman ahdistuksen osalta sairaanhoitajilla, joilla oli enemmän tietoa säteilystä, oli yleensä parempi mielenterveys, mikä viittaa siihen, että säteilyaltistuksen terveysriskejä koskeva koulutus on tärkeää terveydenhuollon ammattilaisille. Yhteenvetona voidaan todeta, että on tärkeää, että sairaanhoitajille annetaan koulutusta säteilyaltistuksesta ja siihen liittyvistä terveysriskeistä ja että sairaanhoitajien mielenterveydenhoitoon sovelletaan kattavaa lähestymistapaa katastrofin kroonisen vaiheen aikana.

**Tulos**

Sairaanhoitajien mielenterveys Fukushiman katastrofin jälkeen: narratiivinen katsaus.

**Esimerkki 1.105**

Nipah-virus ja Hendra-virus ovat kehittymässä olevia, erittäin patogeenisiä, zoonoottisia paramyxoviruksia, jotka kuuluvat Henipavirus-sukuun. Ne tarttuvat ihmisiin sekä lukuisiin nisäkäslajeihin. Molemmat virukset käyttävät epriini-B2- ja -B3-reseptoreina solun sisäänpääsyä, ja sen jälkeen kun ne ovat ensin päässeet elimistöön, ne pystyvät leviämään nopeasti koko isäntäkehoon. Olemme aiemmin raportoineet, että Nipah-virus voi käyttää toista kiinnittymisreseptoria, joka eroaa sen sisäänpääsyreseptoreista, sitoutuakseen ei-permissivisiin kiertäviin leukosyytteihin ja edistääkseen siten viruksen leviämistä isännässä. Tässä tutkimuksessa tämä kiinnittymismolekyyli tunnistettiin heparaanisulfaatiksi sekä Nipah- että Hendra-viruksen osalta. Solut, joissa ei ole heparaanisulfaattia, eivät kyenneet välittämään henipaviruksen trans-infektiota, ja niiden infektiokyky oli heikentynyt. Nipah-viruksen glykoproteiineilla pseudotyypitetyt virukset sitoivat pintaplasmoniresonanssimäärityksessä heparaanisulfaattia ja hepariinia mutta eivät muita glykosaminoglykaaneja. Lisäksi hepariini pystyi estämään virusten vuorovaikutuksen heparaanisulfaatin kanssa ja estämään henipavirusten soluvälitteisen trans-infektion. Lisäksi hepariinin osoitettiin sitoutuvan efriini-B3:een ja hillitsevän sallittujen solujen infektiota in vitro. Näin ollen hoito hepariinilla, jolla ei ole antikoagulanttivaikutusta, paransi Nipah-viruksella infektoituneiden hamstereiden eloonjäämistä. Kaiken kaikkiaan nämä tulokset paljastavat heparaanisulfaatin uudeksi kiinnittymisreseptoriksi henipaviruksille ja potentiaaliseksi terapeuttiseksi kohteeksi, jonka avulla voidaan kehittää uusia lähestymistapoja näitä erittäin tappavia infektioita vastaan. ja avaavat uusia näkymiä heparaanisulfaattiin kohdistuvien terapeuttisten lähestymistapojen kehittämiseksi näitä uusia infektioita vastaan.

**Tulos**

Heparaanisulfaatista riippuvainen Henipavirusinfektion tehostuminen

**Esimerkki 1.106**

Taustaa: Infrapunalämpökuvaskannerit (ITIS) vaikuttavat houkuttelevalta vaihtoehdolta matkustajien massaseulonnassa influenssan varalta, mutta niiden suorituskyvystä lentoasemilla ei ole julkaistuja tietoja. Menetelmät: ITIS-järjestelmällä mitattiin ihon lämpötilaa 1275:ltä lentomatkustajalta, jotka olivat suostuneet tympaanilämpötilan mittaukseen ja hengitysteiden näytteenottoon. ITIS:n avulla tehtävää tympaanilämpötilan (37,8uC ja 37,5uC) ja influenssainfektion ennustamista arvioitiin käyttämällä ROC-käyriä (Receiver Operating Characteristic) ja arvioitua herkkyyttä, spesifisyyttä ja positiivista ennustearvoa (PPV). Tulokset: Kun ITIS-järjestelmää käytettiin 37,8uC:n lämpötilan ennustamiseen, ROC-käyrän alapuolinen pinta-ala oli 0,86 (95%CI 0,75-0,97), ja herkkyys oli 86 %, jolloin spesifisyys oli 71 %. PPV oli 1,5 % tässä matkustajapopulaatiossa, josta 0,5 % oli kuumeisia tämän määritelmän mukaisesti. Influenssavirusinfektio todettiin 30 matkustajalla (3 tyypin A ja 27 tyypin B). Influenssatartunnan ITIS-ennusteessa ROC-käyrän alapuolinen alue oli 0,66 (0,56-0,75), herkkyys 87 %, spesifisyys 39 % ja PPV 2,8 %. Yhdelläkään 30:stä influenssapositiivisesta matkustajasta ei ollut seulonnassa 37,8uC:n lämpötilaa (95 %:n keskiarvo 0-12 %); kolmella ei ollut influenssaoireita. Päätelmät: ITIS-järjestelmä toimi kohtalaisen hyvin kuumeen havaitsemisessa, mutta tässä tutkimuksessa, joka tehtiin pääasiassa B-tyypin influenssaepidemian aikana, kuumeisten influenssatartunnan saaneiden matkustajien osuus oli pieni, eikä ITIS-järjestelmä ollut paljon parempi kuin sattuma tunnistamaan matkustajia, jotka todennäköisesti saivat influenssatartunnan. Vaikka kuumeinen sairaus on yleisempää influenssa A -tartunnoissa kuin influenssa B -tartunnoissa, monet influenssa A -tartunnat ovat kuumeettomia. Tuloksemme viittaavat siis siihen, että ITIS-järjestelmä ei todennäköisesti ole tehokas matkustajien maahantulotarkastuksessa influenssatartunnan havaitsemiseksi, jotta viruksen pääsy maahan voitaisiin estää.

**Tulos**

Lämpökuvaskannaus influenssan rajaseulonnassa: Lentoaseman seulontatutkimuksen tulokset

**Esimerkki 1.107**

Akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä (ARDS) on kuolemaan johtava keuhkojen tulehduksellinen sairaus. Sen esiintyvyydeksi arvioidaan 75 tapausta 100 000 asukasta kohti, ja se näyttää olevan kasvussa [1] . Vaikka hoito olisi optimaalista, kuolleisuus on noin 30 % [1-3]. Näin ollen ARDS on merkittävä kansanterveysongelma. Kahden viimeaikaisen kriisin vaikutukset, jotka ovat aiheutuneet epätavallisista hengitysteiden virusinfektioista - uuden SARS-koronaviruksen aiheuttama vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS) -epidemia [4, 5] ja lintuinfluenssa [6], korostavat ARDS:n tutkimuksen merkitystä. Molemmat virukset aiheuttavat ARDS:n kaltaisen kuvan. Koska keuhkojen korjautuminen ja uudistuminen vaikuttavat olennaisesti ARDS:n patofysiologiaan, näiden prosessien ymmärtäminen on olennaista [7] . Tässä luvussa keskitytään tiettyihin solupopulaatioihin ja merkkiaineisiin, jotka osallistuvat solujen jakautumiseen ja uudistumiseen. Lisäksi esitetään lyhyt katsaus kahteen solunjakautumiseen läheisesti liittyvään reittiin niiden farmakologisen manipulointimahdollisuuden vuoksi.

**Tulos**

Solujen uusiutuminen keuhkovauriossa

**Esimerkki 1.108**

Taustaa: Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) aiheutti useita taudinpurkauksia. Tällaiset taudinpurkaukset lisäävät taloudellista ja infektioiden torjunnasta aiheutuvaa taakkaa. Tutkimme MERS-CoV:n vaikutusta infektioiden valvontaan sairaalapohjaisen analyysin avulla. Menetelmät: Sairaalassamme oli 17 positiivista ja 82 negatiivista MERS-CoV-tapausta 1. huhtikuuta 2013 ja 3. kesäkuuta 2013 välisenä aikana. Tutkimuksessa arvioitiin näiden tapausten vaikutusta käsineiden, kirurgisten naamareiden, N95-hengityssuojainten, alkoholipohjaisen käsidesinfiointiaineen ja saippuan käyttöön sekä käsihygienian noudattamisasteeseen. Tulokset: Tutkimuksen aikana henkilökohtaisten suojavarusteiden käyttö MERS-CoV:n aikana verrattuna MERS-CoV:tä edeltävään aikaan lisääntyi dramaattisesti 2 947,4:stä 10 283,9:ään 1 000 potilaspäivää kohti (P < .0000001) kirurgisten naamarien osalta ja 22:sta 232:een 1 000 potilaspäivää kohti (P < .0000001) N95-maskien osalta. Alkoholipohjaisen käsihuuhteen ja saippuan käyttö lisääntyi merkittävästi (P < .0000001). Käsihygienian noudattamisaste nousi 73 prosentista juuri ennen ensimmäisen MERS-tapauksen esiintymistä 88 prosenttiin MERS-tapausten aikana (P = .0001). Mukaan otettujen infektioiden torjuntatarvikkeiden kuukausittaiset lisäkustannukset olivat 16 400 dollaria. Päätelmät: Kirurgisten naamarien, hengityssuojainten, saippuan ja alkoholipohjaisten käsihuuhteiden käyttö lisääntyi merkittävästi. Tällainen lisäys on haaste ja lisää kustannuksia terveydenhuoltojärjestelmälle.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen vaikutus infektioiden torjuntaan: Sairaalapohjainen analyysi

**Esimerkki 1.109**

Influenssaviruksen geneettisistä sekvensseistä voidaan kehittää nopeasti viruksen kaltaisia hiukkasia (VLP), jotta pandemian puhkeamisen jälkeen voidaan tuottaa rokotetta. Yhdellä tai kahdella annoksella rekombinantti A(H1N1)2009-influenssa VLP-rokotteen turvallisuutta ja immunogeenisuutta arvioitiin kaksivaiheisessa, vaiheen 2 satunnaistetussa, kaksoissokkoutetussa ja lumekontrolloidussa tutkimuksessa, joka toteutettiin Meksikossa vuoden 2009 H1N1-pandemian aikana 4563:lla terveellä, 18-64-vuotiaalla aikuisella. Osassa A 1013 koehenkilöä satunnaistettiin neljään hoitoryhmään (5 g, 15 g tai 45 g hemagglutiniini [HA] VLP-rokotetta tai lumelääkettä), ja heidät rokotettiin 21 päivän välein, ja seerumit kerättiin päivinä 1, 14 ja 36 hemagglutinaation eston (HAI) testausta varten. Osan A turvallisuus- ja immunogeenisuustietojen tarkastelun jälkeen lisähenkilöt immunisoitiin kerta-annoksella 15 g VLP-rokotetta (N = 2537) tai lumelääkettä (N = 1011), ja heidän turvallisuuttaan arvioitiin osassa B. Tulokset osoittivat, että H1N1 2009 VLP-rokote oli turvallinen ja hyvin siedetty. Systeemiset kutsutut tapahtumat olivat samanlaisia plasebo- ja VLP-rokotettujen ryhmien välillä, eikä rokotteeseen liittyviä vakavia haittatapahtumia ollut. Paikallisten haittatapahtumien osalta havaittiin annosvastesuuntauksia, ja paikallista kipua, turvotusta, arkuutta ja punoitusta raportoitiin enemmän suuremmissa VLP-annosryhmissä (15 g ja 45 g) kuin plasebo- ja 5 g VLP-ryhmissä molempien rokotusten jälkeen. Vaikka suurin osa paikallisista haittavaikutuksista oli vaikeusasteeltaan lieviä, myös näissä pyydetyissä tapahtumissa havaittiin annostussuuntaus keskivaikeiden tai vakavampien tapahtumien osalta. VLP-rokoteryhmät osoittivat vahvaa HAI-immuunivastetta yhden rokotuksen jälkeen, ja serosuojan (≥40 HAI-titteri) osuus oli korkea 82-92 %:lla kaikista koehenkilöistä ja 64-85 %:lla niistä koehenkilöistä, jotka olivat seronegatiivisia immunisointihetkellä. HAI:n geometriset keskitiitterit (GMT), geometriset keskisuhteet (GMR) ja serokonversioasteet olivat myös kaikki tilastollisesti korkeampia VLP-ryhmissä verrattuna lumelääkkeeseen molemmissa lähtötilanteen jälkeisissä ajankohdissa. Näiden tietojen perusteella on kehitteillä uusia kliinisiä tutkimuksia, joissa arvioidaan influenssarokote-ehdokkaiden antigeenejä, jotka on valmistettu Spodoptera frugiperda (Sf9)/baculovirus-pohjaisella VLP-teknologialla.

**Tulos**

Vuoden 2009 influenssapandemia A(H1N1)-pandemiaan tarkoitetun viruksen kaltaisten hiukkasten rokotteen turvallisuus ja immunogeenisuus sokkoutetussa, satunnaistetussa, lumekontrolloidussa tutkimuksessa, johon osallistui aikuisia Meksikossa.

**Esimerkki 1.110**

Kruusaiini kuuluu papaiini/katsepsiini-L-perheen kysteiiniproteaaseihin ja on Chagasin taudin aiheuttajan Trypanosoma cruzi -alkueläimen tärkein kysteiiniproteaasi. Raportoimme auto-induktiomenetelmästä, jolla saadaan liukoista krusaiinia suurella saannolla (> 30 mg litrassa minimaalisessa väliaineessa). Nämä suuremmat saannot tuottavat riittävät määrät aktiivista entsyymiä NMR-pohjaiseen ligandikartoitukseen. CD- ja NMR-spektroskopian avulla tutkimme myös entsyymin rakenteellista dynamiikkaa liuostilassa kompleksissa kovalenttisesti sidotun vinyylisulfoni-inhibiittorin (K777) kanssa. Raportoimme selkärangan amidien ja sivuketjujen hiilien kemialliset siirtymät kruusaiinille kompleksissa K777:n kanssa. Näitä resonanssien määrityksiä käytettiin tunnistamaan ja kartoittamaan substraatin sitoutumistaskussa sijaitsevia jäämiä, mukaan lukien katalyyttinen Cys25 ja His162. Selektiivinen 15 N-Cys-, 15 N-His- ja 13 C-Met-merkintä suoritettiin cruzainin ja ligandin vuorovaikutusten nopeaksi arvioimiseksi kahdeksalle pienimolekyylipainoiselle yhdisteelle, joilla oli mikromolaarinen sitoutuminen tai inhibitio. Kemiallisen siirtymän häiriökartoitus todentaa, että kuusi näistä kahdeksasta yhdisteestä sitoutuu kruzaiiniin aktiiviseen kohtaan. Yhdisteille määritettiin kolme erilaista sitoutumistapaa: kovalenttinen, ei-kovalenttinen ja ei-interaktiivinen. Nämä tulokset ovat esimerkkejä siitä, miten NMR-spektroskopiaa voidaan käyttää yhdisteiden seulontaan entsyymi-inhibiittori-vuorovaikutusten nopeassa arvioinnissa, jotta voidaan helpottaa johtavien yhdisteiden tunnistamista ja myöhempiä rakennetutkimuksia.

**Tulos**

NMR-spektroskopian avulla tapahtuva inhibiittorin sitoutumismuotojen kartoitus aktiivisessa kysteiiniproteaasissa

**Esimerkki 1.111**

G-kvadrupleksit ovat ei-kanonisia nukleiinihapporakenteita, jotka ohjaavat transkriptiota, replikaatiota ja rekombinaatiota eliöissä. G-kvadruplexeja esiintyy eukaryooteissa, prokaryooteissa ja viruksissa. Viimeksi mainituissa yhä useammat todisteet viittaavat niiden keskeiseen biologiseen toimintaan. Koska viruksia koskevat tiedot ovat hajanaisia, esitämme tässä kattavan analyysin kaikkien sellaisten tunnettujen virusten genomissa olevista oletetuista G-kvadruplekseista, jotka voivat tartuttaa ihmisiä. Osoitamme, että G-kvadrupleksien esiintyminen, jakautuminen ja sijainti ovat kullekin virusluokalle ja -perheelle ominaisia piirteitä. Tilastollinen analyysimme osoittaa, että niiden esiintyminen virusten genomissa on järjestetty järjestyksessä, mikä näkyy siinä, että jopa kaksi kolmasosaa viruksista voidaan G-kvadrupleksien luokittelun perusteella luokitella oikein täsmälliseen luokkaan. Kunkin viruksen osalta annamme: i) luettelon kaikista genomissa olevista GG-, GGG- ja GGGG-saarekkeista muodostetuista G-kvadruplekseista (positiiviset ja negatiiviset säikeet), ii) niiden sijainnin viruksen genomissa sekä kyseisen alueen tunnetun funktion, iii) kunkin G-kvadrupleksin säilymisasteen kantojen välillä genomikontekstissaan, iv) G-kvadrupleksin muodostumisen tilastollisen merkityksen. Nämä tiedot ovat saatavilla tietokannasta

**Tulos**

G-kvadrupleksin muodostavat sekvenssit kaikkien tunnettujen ihmisvirusten genomissa: kattava opas Running title: G4:n esiintyminen ja säilyminen ihmisviruksissa.

**Esimerkki 1.112**

Mutaatiomäärät voivat kehittyä geneettisen ajelehtimisen, geneettisen liftaamisen aiheuttaman epäsuoran valinnan tai korkean uskollisuuden fysikaalis-kemiallisiin kustannuksiin perustuvan suoran valinnan kautta. Monien järjestelmien kohdalla on kuitenkin ollut vaikeaa erottaa näiden voimien suhteellista vaikutusta empiirisesti. RNA-viruksissa havaittu korrelaatio mutaationopeuden ja virulenssin välillä on saanut monet väittämään, että niiden erittäin korkea mutaationopeus on edullinen, koska se voi mahdollistaa suuremman sopeutumiskyvyn. Tällä väitteellä on syvällisiä seurauksia, koska se viittaa siihen, että monien virusinfektioiden patogeneesi riippuu harvinaisista tai de novo -mutaatioista. Tässä esitämme tietoja vaihtoehtoisesta mallista, jonka mukaan RNA-virukset kehittävät korkeita mutaatiolukuja lisääntyneen replikaationopeuden valinnan sivutuotteena. Havaitsemme, että polioviruksen antimutaattorilla, 3D G64S , on merkittävä replikaatiovika ja että villityyppi- (WT) ja 3D G64S -populaatioilla on samanlainen sopeutumiskyky kahdessa erilaisessa soluympäristössä. 3D G64S:n kokeellinen evoluutio replikaationopeuden valinnassa johti uskollisuuden fenotyypin palautumiseen ja kompensaatioon. 3D G64S:llä infektoituneilla hiirillä esiintyi viivästynyttä sairastuvuutta annoksilla, jotka olivat selvästi yli tappavan tason, mikä on johdonmukaista hitaamman kasvun aiheuttaman vaimennuksen kanssa eikä niinkään vähentyneen mutaatiotarjonnan kanssa. Lisäksi 3D G64S:n kasvuhäiriön kompensointi palautti virulenssin, kun taas fideliteettifenotyypin kompensointi ei. Tietomme ovat sopusoinnussa biosynteettisten reaktioiden kineettisen oikolukumallin kanssa ja viittaavat siihen, että nopeus on tärkeämpää kuin tarkkuus. Toisin kuin monien RNA-virusten kohdalla on esitetty, havaitsemme, että isännän sisäinen leviäminen liittyy viruksen replikaationopeuteen eikä pysyvään geneettiseen monimuotoisuuteen. Evoluutiobiologian pitkäaikainen kysymys on, miksi eliöillä on erilaisia mutaationopeuksia. RNA-virusten polymeraaseilta puuttuu yleensä oikolukutoiminta, ja niiden mutaationopeus on erittäin korkea. Koska useimmat mutaatiot ovat haitallisia ja mutaatio PLOS Biology | https://doi.org/10.1371/journal.pbio.Citation: Fitzsimmons WJ, Woods RJ, McCrone JT, Woodman A, Arnold JJ, Yennawar M, et al. (2018) A speed-fidelity trade-off determines the mutation rate and virulence of an RNA virus. PLoS Biol 16(6): e2006459. https://doi.The rahoittajalla ei ollut mitään osuutta tutkimuksen suunnittelussa, tietojen keruussa ja analysoinnissa, julkaisupäätöksessä tai valmisteluissa, joten kysyimme, miksi RNA-virukset eivät ole kehittäneet polymeraasia, jonka mutaationopeus on alhaisempi. Käytimme kokeellista evoluutiota ja hiiri-infektiomallia osoittaaksemme, että RNA-virusten mutaatioluvut saattavat itse asiassa olla liian korkeita eivätkä välttämättä ole sopeutuvia. Pikemminkin tietomme osoittavat, että virusten mutaatioluvut ovat kehittyneet korkeammiksi nopeamman replikaatiokinetiikan omaavien virusten valinnan seurauksena. Ehdotamme, että viruksilla on korkeat mutaatioluvut, ei siksi, että ne helpottaisivat sopeutumista, vaan siksi, että on vaikeaa olla sekä nopea että tarkka, ja nämä virukset ovat asettaneet nopeuden uskollisuuden edelle. Nopeuden ja uskollisuuden välinen kompromissi PLOS Biology | https://doi.org/10.1371/journal.pbio.

**Tulos**

Nopeuden ja uskollisuuden välinen kompromissi määrittää RNA-viruksen mutaationopeuden ja virulenssin.

**Esimerkki 1.113**

Evoluutiohistoriansa aikana ihmiset ovat altistuneet monille erilaisille sairauksille, joista joillakin on vakavia ja jopa tappavia seurauksia. Lääkekasvien muistaminen vakavien sairauksien hoitoon maksimoi todennäköisesti selviytymis- ja lisääntymismahdollisuudet ja vaikutti olennaisesti lajimme evoluution menestykseen. Tässä tutkimuksessa käytimme sopeutuvan muistin ajatusta ymmärtääkseen, kehittyikö ihmisen muisti muistamaan tietoa lääkekasveista vakavien sairauksien hoitoa varten. Pidimme kasvi-sairaus-sanapareja lääkekasvien käyttöön perustuvassa lääketieteellisessä järjestelmässä saatavilla olevien tietojen yksikköinä. Kroonisten tartuntatautien ja tarttuvien tartuntatautien luokkiin kuuluvilla pareilla katsottiin olevan korkeampi adaptiivinen arvo, kun taas yleisten sairauksien luokkaan kuuluvilla pareilla katsottiin olevan alhaisempi adaptiivinen arvo. Uusien ja uudelleen ilmenevien tautien luokkaan ryhmiteltyjä pareja käytettiin vaatimustenmukaisuusvirheiden tutkimiseen; esteettisten käyttötarkoitusten luokkaan kuuluvia pareja pidettiin sopeutumisarvoltaan vähäisinä, ja niitä käytettiin kokeellisena kontrollina. Tuloksistamme kävi ilmi, että yleisten sairauksien luokkaan kuuluvat kasvi-sairausparit, joiden katsoimme olevan vähemmän vakavia ja vähemmän sopeutumisrelevantteja ihmisille, jäivät paremmin mieleen ja säilyivät paremmin osallistujien muistissa. Uskomme, että aiempi kokemus yleisistä sairauksista ja näiden sairauksien yleisyys väestössä ovat saattaneet vahvistaa kykyä muistaa tähän sairausryhmään liittyvät kasvi-sairausparit. OPEN ACCESS Citation: Henriques da Silva R, Ferreira Júnior WS, Muniz de Medeiros P, Albuquerque UP (2019) Adaptive memory and evolution of the human naturalistic mind: Insights from the use of medicinal plants. PLoS ONE 14(3): e0214300.

**Tulos**

Sopeutuva muisti ja ihmisen luonnollisen mielen evoluutio: Oivalluksia lääkekasvien käytöstä

**Esimerkki 1.114**

B-hepatiittiviruksen (HBV) transkriptio kovalenttisesti suljetulta ympyränmuotoiselta DNA-mallilta (cccDNA) on välttämätöntä sen replikaatiolle. cccDNA:n tason ja transkriptioaktiivisuuden tukahduttamisella saattaa olla HBV:tä estävä vaikutus. Vaikka solujen transkriptiotekijät, kuten CREB, jotka välittävät HBV:n transkriptiota, on kuvattu hyvin, tätä prosessia helpottavia transkription koaktivaattoreita ei tunneta riittävästi. Tässä tutkimuksessa osoitimme, että CREB:n säätelemää transkriptionaalista koaktivaattoria 1 (CRTC1) tarvitaan HBV:n transkription ja replikaation kannalta. CRTC1-proteiinin vakaan tilan tasot olivat koholla HBV-positiivisissa hepatoomasoluissa ja maksakudoksissa. CRTC1:n tai sen homologin CRTC2:n tai CRTC3:n eksopinen ilmentyminen hepatoomasoluissa stimuloi HBV:n preS2/S-promoottorin aktiivisuutta, kun taas CRTC1:n dominoivan inaktiivisen muodon yliekspressio esti HBV:n transkriptiota. CRTC1 on vuorovaikutuksessa CREB:n kanssa, ja niitä tarvitaan vastavuoroisesti cccDNA:n preS2/S-promoottorin rekrytointiin ja HBV:n transkription aktivointiin. Pregenomisen RNA:n (pgRNA) ja cccDNA:n kertymistä havaittiin, kun CRTC1:tä tai sen homologeja yliekspressoitiin, kun taas pgRNA:n, cccDNA:n ja erittyvän HBsAg:n määrät vähenivät, kun CRTC1:n toiminta heikkeni. Lisäksi HBV:n transaktivaattoriproteiini HBx vakautti CRTC1:n ja edisti sen aktiivisuutta HBV:n transkriptiossa. Työmme paljastaa CRTC1-koaktivaattorin olennaisen roolin HBV:n transkription ja replikaation helpottamisessa ja tukemisessa.

**Tulos**

CRTC1-koaktivaattorin vaatimus hepatiitti B -viruksen transkriptiossa

**Esimerkki 1.115**

HIV-tartunnan saaneet potilaat voivat saada uusia virusperäisiä samanaikaisia infektioita; heillä voi myös olla olemassa olevien virusinfektioiden, mukaan lukien aktiivisten, kytevien tai piilevien infektioiden, uudelleenaktivoituminen tai paheneminen. HIV-tartunnan saaneet potilaat voivat olla alttiita näille virusinfektioille immuunipuutoksen tai HIV:lle ja muille viruksille yhteisten riskitekijöiden vuoksi. Monet näistä vaikuttavat munuaisiin joko suoran infektion tai immuunikompleksien laskeutumisen kautta. Tässä katsauksessa käsittelemme C-hepatiittiviruksen, BK-viruksen, adenoviruksen, sytomegaloviruksen ja parvovirus B19:n munuaismanifestaatioita ja hoitoa HIV-potilailla. Käsittelemme myös lähestymistapaa uusien virusperäisten munuaispatogeenien tunnistamiseen käyttämällä viruksen geenisirua viruksen DNA:n tai RNA:n tunnistamiseksi.

**Tulos**

Virukset ja munuaissairaudet: HIV:n lisäksi

**Esimerkki 1.116**

Vierasperäiset villieläinlajit voivat toimia tartuntatautien ylimääräisinä isäntä- ja tartunnanlevittäjälajeina. Pesukarhukoira (Nyctereutes procyonides), Aasiasta peräisin oleva lihansyöjälaji, otettiin esimerkkinä osoittamaan biologiset ja ekologiset edellytykset, joiden avulla vieraslaji voi vallata uuden elinympäristön pysyvästi. Viimeisten 20 vuoden aikana tehdyissä tutkimuksissa havaittiin yhteensä 35 endoparasiittilajia, viisi ektoparasiittilajia, kuusi bakteeri- tai alkueläinlajia ja viisi virusta, joita esiintyi Nyctereutes procyonoides ussuriensis -alalajissa sen alkuperäisessä ja uudessa elinympäristössä ja Nyctereutes procyonoides koreensis -alalajissa sen alkuperäisessä elinympäristössä. Viitaten supikoirien vaikutukseen vektorilajeina ja niiden merkitykseen ihmisten ja eläinten terveydelle valitsimme Trichinella spp.:n, Echinococcus multiloculariksen, Francisella tularensiksen, raivotautiviruksen ja koiran penikkatautiviruksen yksityiskohtaista kuvausta varten. Suomessa ja Saksassa tehtyjen tutkimusten tulokset osoittivat lisäksi, että supikoiran biologiset ominaisuudet tekevät tästä lihansyöjästä ihanteellisen isännän ja vektorin monille taudinaiheuttajille. Tämä voi johtaa tämän vieraslajin kasvavaan merkitykseen eräiden tarttuvien tautien epidemiologiassa Euroopassa, ja se voi aiheuttaa vaaran, että alkuperäisten luonnonvaraisten eläinten, erityisesti pienten populaatioiden, olemassaolo on vaarassa. On myös otettava huomioon mahdolliset haitalliset vaikutukset ihmisten ja eläinten terveyteen karjankasvatusalalla. Etenkin, kun otetaan huomioon sen potentiaali zoonoosien kantajana, supikoiraan olisi kiinnitettävä enemmän huomiota tautien ehkäisy- ja hävittämisstrategioissa.

**Tulos**

Supikoiran (Nyctereutes procyonoides, Gray 1834) biologinen potentiaali vieraslajina Euroopassa - uusia riskejä tautien leviämiselle?

**Esimerkki 1.117**

Rekombinanttisten hiiren hepatiittivirusten (MHV) pilkkoutumis- ja fuusio-ominaisuuksia tutkittiin, jotta voitiin arvioida pilkkoutumissignaalin merkitystä S-proteiinin pilkkoutumisen laajuuden määrittämisessä sekä pilkkoutumisen ja solujen välisen fuusion indusoimisen välistä korrelaatiota. MHV-kannan A59 fuusioglykoproteiinin (piikki tai S-proteiini) pilkkomissignaaliin (spike tai S-proteiini) lisättiin aminohapposubstituutioita kohdennetun rekombinaation avulla. Tämän jälkeen rekombinanteilla tutkittiin, mikä merkitys S-proteiinin pilkkomisella ja viruksen välittämällä solujen välisellä fuusiolla on patogeenisuudelle. Tietomme osoittavat, että spiken pilkkoutuminen ei määräydy pelkästään pilkkoutumiskohdan aminohapposekvenssin perusteella, vaan se voi riippua myös pilkkoutumiskohdan ulkopuolella olevista sekvensseistä. Lisäksi tehokas solujen välinen fuusio ei ole välttämätön virulenssin kannalta. Journal of NeuroVirology (2002) 8, 400-410.

**Tulos**

Hiiren hepatiittiviruskannan A59 virulenssi ei ole riippuvainen tehokkaasta piikkiproteiinin pilkkomisesta ja solujen välisestä fuusiosta.

**Esimerkki 1.118**

Vaikka tartuntatautien seurantatietoja käytetään laajalti kansanterveydellisten toimien ja valvontatoimenpiteiden perustana, ilmoitettavien tautien seurantajärjestelmän raportoinnin kattavuutta ei ole vielä arvioitu riittävästi. Therefore, we conducted a comprehensive study of reporting completeness with an analysis of 53 diseases reported by 8 health care systems across North Carolina, USA, during 1995USA, during -1997USA, during and 2000USA, during -2006. Kaikki potilaat, joille oli annettu kansainvälisen tautiluokituksen (International Classifi cation of Diseases, 9th Revision, Clinical Modifi cation) diagnoosikoodi osavaltiossa ilmoitettavaksi vaadittavasta tartuntataudista, sovitettiin yhteen valvontatietojen kanssa. Käytimme logistisia regressiotekniikoita arvioidaksemme raportoinnin kattavuutta taudin, vuoden ja terveydenhuoltojärjestelmän mukaan. Raportoinnin kattavuus vaihteli terveydenhuoltojärjestelmien välillä 2 prosentista 30 prosenttiin ja parani ajan myötä. Tautikohtaisen raportoinnin kattavuus vaihteli 0 prosentista 82 prosenttiin, mutta se oli yleisesti ottaen alhainen jopa niiden tautien osalta, joilla on suuri kansanterveydellinen merkitys ja jotka tarjoavat mahdollisuuden toimenpiteisiin.

**Tulos**

Tekijän sidonnaisuudet: University of North Carolina Health Care Sys-tem

**Esimerkki 1.119**

Ihmisen immuunikatovirus-1:n (HIV-1) viruksen ribonukleoproteiinikompleksi assosioituu viruksen kuoren (Env) kanssa muodostaen infektiivisiä virioneja. Vaikka Env:n ja Gag:n tiedetään siirtyvän lipidimikroalueille, niiden vuorovaikutuksen stoikiometriaa ja spesifisyyttä ei tunneta. Tässä tutkimuksessa analysoimme eri virusglykoproteiinien, HIV Env:n ja Ebola GP:n, yhdistymistä HIV-1 Gag -proteiinin kanssa, joka on yhdessä ekspressoitu samassa solussa. Vaikka näitä kahta viruksen piikkiä ekspressoitiin molemmat, kumpikin assosioitui itsenäisesti Gagin kanssa ja synnytti kaksi erillistä virionipopulaatiota, joissa kummassakin oli yhden tyypin piikki. Konfokaalikuvantaminen osoitti, että HIV Env 89.6 ja Ebola GP lokalisoituivat samassa solussa erillisiin lipidilauttojen mikroalueisiin, joissa kumpikin assosioitui erillisiin Gag-hiukkasiin. Samanlainen Env-lokalisaatio havaittiin HIV-infektoituneissa T-soluissa, joissa ~14 prosenttia Env:stä liittyi Gagiin tuottavan infektion aikana. Yhdessä nämä tiedot viittaavat siihen, että yksittäinen Gag-kompleksi assosioituu "kvantitatiivisesti" yksittäiseen lipidiräppänän mikroalueeseen kootakseen toimivia virioneja infektion aikana.

**Tulos**

Lentivirusten kvantitatiivinen muodostuminen soluissa: viruksen glykoproteiinien erottuminen lipidilauttoihin, jotka assosioituvat erikseen HIV-1-kapsidien kanssa.

**Esimerkki 1.120**

Tässä artikkelissa esitellään uusi mikrofluidinen immunomääritysalusta, joka perustuu hiivan pintanäyttötekniikan (YSD) ja mikrofluidisen tekniikan synergistiseen yhdistelmään. YSD-tekniikan avulla kohdevasta-aineelle spesifiset antigeenit näytetään muokattujen hiivasolujen pinnalla solunsisäisten fluoresoivien proteiinien avulla. Näytettyjä antigeenejä käytetään sitten kohdevasta-aineen havaitsemiseen, ja hiivasolut toimivat fluoresoivina merkkeinä. Multiplex-immunomääritys voidaan toteuttaa helposti käyttämällä hiivasoluja, jotka ilmentävät erilaisia solunsisäisiä fluoresoivia proteiineja eri antigeenien esittämiseen. Tämän YSD-pohjaisen immunomäärityksen toteuttaminen mikrofluidisella alustalla poistaa tarpeen käyttää tilaa vievää, monimutkaista ja kallista virtaussytometriä. Havaitsemisherkkyyden parantamiseksi ja pumppaustarpeen poistamiseksi mikrofluidisiruun on sisällytetty funktionalisoitu mikropilariryhmä (MPA), jonka tuloksena havaitsemisraja on 5 ng/ml (tai 1 ng määränä ilmaistuna) ja parannettu yhteensopivuus käytännön sovellusten, kuten kliinisten biopsioiden, kanssa. Tällä uudella alustalla on suuri potentiaali integroitua mikrofluidisiin havaitsemisjärjestelmiin, jotta kannettava diagnostiikka olisi tulevaisuudessa mahdollista.

**Tulos**

Hiivan pintanäyttöön perustuva mikrofluidinen immunomääritysmenetelmä

**Esimerkki 1.121**

Tarkoitus: Tutkimuksen tavoitteena oli tutkia hakustrategioita, jotka mahdollistaisivat kattavan hakumenetelmän, jolla voitaisiin hakea eniten viitattuja artikkeleita tietyissä tehohoidon luokissa. Aineisto ja menetelmät: Kattava luettelo eniten viitatuista tehohoitolääketieteen artikkeleista luotiin tekemällä hakuja Science Citation Index Expanded -tietokannasta käyttäen yleisiä tehohoidon termejä kuvaavia hakusanoja, kuten "critical care", tehohoitolehtien otsikoita ja tehohoidon ala-aiheiden hakusanoja. Tulokset: Lopullinen tietokanta sisälsi 1187 artikkelia, jotka oli julkaistu vuosina 1905-2006. Eniten viitattuun artikkeliin viitattiin 4909 kertaa. Tuottavin hakusana oli tehohoito. Tällä termillä löydettiin kuitenkin vain 25 prosenttia sadasta parhaasta artikkelista. Lisäksi 662:ta 1000:sta parhaasta artikkelista ei löytynyt minkään tehohoidon perushakusanan avulla. Sepsis, akuutti keuhkovaurio ja mekaaninen ventilaatio olivat yleisimmät haettujen artikkelien aihealueet. Päätelmät: Usein siteerattujen, vaikutusvaltaisten tehohoitoartikkeleiden löytäminen edellyttää useiden hakusanojen ja käsikirjoituslähteiden käyttöä. Säännölliset kokoelmat eniten siteeratuista artikkeleista voivat olla hyödyksi tehohoidon ammattilaisille ja tutkijoille, jotta he pysyvät ajan tasalla tärkeästä tiedosta.

**Tulos**

Kirjallisuuskatsaus Vaikuttavimmat artikkelit tehohoitolääketieteen alalla ☆.

**Esimerkki 1.122**

Krooninen obstruktiivinen keuhkosairaus (COPD) on sairaus, jonka esiintyvyys on suuri ja johon liittyy huomattava taloudellinen taakka. Keuhkoahtaumataudin akuutti pahenemisvaihe vaikuttaa merkittävästi elämänlaatuun, pitkäaikaiseen eloonjäämiseen ja terveydenhuollon kustannuksiin. Akuutteja pahenemisvaiheita aiheuttavat hengitystievirukset, muuttunut hengitysteiden mikrobiomi ja ympäristötekijät. Nykyiset hoitovaihtoehdot ovat rajalliset. Erityisten hoitotoimenpiteiden kehittämiseksi on tärkeää ymmärtää, miten akuutit pahenemisvaiheet kehittyvät. Tässä katsauksessa keskitytään vakaan ja pahenevan keuhkoahtaumataudin patofysiologiaan.

**Tulos**

Kroonisen obstruktiivisen keuhkosairauden paheneminen

**Esimerkki 1.123**

INcnak! G. A. ja AL-YAMAN F. 1988. Vertaileva arviointi neljästä serologisesta menetelmästä, joita käytetään parasiittivasta-aineiden havaitsemisessa ja mittaamisessa sammakkoeläimen Bufo viridis seerumissa. International Journal for Parasitology 18: 371-377. Cn'thidia fasciculata choanomastigoottien vasta-aineita havaittiin vihreän konnan (Bufo viridis) seerumissa suoralla agglutinaatiolla, epäsuoralla hemagglutinaatiolla (IHA), komplementtifiksaatiotestillä (CFT) ja entsyymisidonnaisella immunosorbenttimäärityksellä (ELISA). Korrelaatiokertoimet (r) laskettiin kunkin menetelmän vertailemiseksi keskenään ja saatiin regressiokaavoja, joiden avulla yhdellä immunologisella menetelmällä määritetyt vasta-ainetasot voitiin muuntaa toisella menetelmällä määritetyiksi. ELISA-menetelmällä saatu korkein keskimääräinen tiitteri oli noin 1,5-3,5 kertaa suurempi kuin muilla menetelmillä saadut arvot, kun taas CFT:llä saatiin alhaisimmat arvot. IHA- ja ELISA-titereihin vaikuttivat erilaiset crithidial-antigeeniuutteiden valmisteet. Kontrolliseerumeille määritettiin erittäin merkitseviä r-arvoja, kun IHA:ta verrattiin ELISA:han (r> 0,79) ja sekä CFT:hen että ELISA:han immuunilla eläimellä (r> 0,96). ELISA-menetelmä näyttäisi soveltuvan parhaiten muiden alempien selkärankaisten eläinten seulontaan parasiittivasta-aineiden varalta erityisesti alueilla, joilla tautia esiintyy ihmisillä.

**Tulos**

VERTAILEVA ARVIO NELJÄSTÄ SEROLOGISESTA MENETELMÄSTÄ, JOITA KÄYTETÄÄN ANTIPARASIITTIVASTA-AINEIDEN TUNNISTAMISESSA JA MITTAAMISESSA AMFIBIAN, BUFO K!XIDIs:n, VERENVERTAILUUN

**Esimerkki 1.124**

Rekombinanttikissan interferoni-v:n (rFeIFN) antamista on ehdotettu koirien ja kissojen parvoviroosin ennaltaehkäisyyn. Tässä tutkimuksessa arvioitiin rFeIFN:n antamisen vaikutusta veren tulehdusmerkkiaineisiin (a-globuliinit, 1-happoinen glykoproteiini) ja immuunijärjestelmän aktivoitumiseen (g-globuliinit, IgG, IgM, spesifinen kissan parvoviruksen IgG tai IgM) kissan parvoviruksen IgG:n tai IgM:n vastainen spesifinen anti-kissan parvovirus IgG tai IgM) kissan parvovirustartunnasta johtuvan kissan panleukopenian puhkeamisen jälkeen muutama päivä sen jälkeen, kun alun perin oli annettu rFeIFN:ää. Kissanpennuille (n = 23) annettiin rFeIFN-injektio (1 MU/kg ihon alle kerran päivässä kolmen päivän ajan), ja niiden veriparametreja verrattiin 17 käsittelemättömän kissan parametreihin. Kissat, jotka selvisivät taudinpurkauksesta, rokotettiin, ja niistä otettiin uudet näytteet 1 kuukauden kuluttua viimeisestä rFeIFN:n antamisesta. Kliinisten oireiden ilmaantumisaika ja eloonjäämisaste eivät eronneet merkittävästi näiden kahden ryhmän välillä. Kontrollikissoilla ja hoidetuilla kissoilla, jotka selvisivät tartunnasta, oli korkeat g-globuliini-, kokonais- ja anti-FPV-spesifisten IgG:iden pitoisuudet, mikä johtui todennäköisesti äidin immuniteetin passiivisesta siirtymisestä. Kontrolleihin verrattuna hoidetuilla kissanpennuilla oli alhaisemmat a 1 -globuliinipitoisuudet ja korkeammat g-globuliinien ja immunoglobuliinien keskiarvot. Rokotuksen jälkeen kerätyistä näytteistä saadut tiedot osoittivat, että hoidetuilla kissanpennuilla oli korkeammat gglobuliinit, kokonais- ja anti-FPV-spesifiset IgG:t kuin kontrolleilla, mikä viittaa siihen, että rFeIFN stimuloi vasta-ainetuotantoa. Näiden tulosten perusteella rFeIFN:ää olisi annettava kuningattarelle emon passiivisen immuniteetin lisäämiseksi tai pennuille ennen niiden tuomista mahdollisesti saastuneeseen ympäristöön. # \* P < 0,05 vs. CI. y P < 0,05 vs. CII ja vs. TI.

**Tulos**

Tulehduksen ja immuniteetin arviointi kissoilla, joilla on spontaani parvovirusinfektio: Kissan rekombinanttiinterferoni-v:n antamisen seuraukset.

**Esimerkki 1.125**

Jotta saatiin aikaan tähän mennessä monipuolisin flavivirusten fylogeneettinen tietokokonaisuus, määritettiin 14 flaviviruksen genomisekvenssit ja fylogeneettiset suhteet, joista 10 liittyy ensisijaisesti Culex-suvun hyttysiin. Analysoimme näitä tietoja yhdessä kattavan flavivirusten genomikokoelman kanssa, jotta voimme luonnehtia flavivirusten evoluutiota ja biogeografista historiaa ennennäkemättömän yksityiskohtaisesti ja laajasti. Perustuen keltakuumeviruksen oletettuun kulkeutumiseen Amerikkaan transatlanttisen orjakaupan kautta ekstrapoloimme aikaskaalan flavivirusten merkitykselliselle osajoukolle, jonka evoluutiohistoria osoittaa, että Culex-suvun hyttyset ovat kulkeutuneet Vanhasta maailmasta Uuteen maailmaan ainakin viidessä eri yhteydessä, ja eri virusten leviämiseen on todennäköisesti vaikuttanut kaksi eri tekijäryhmää. Keskustelemme myös ohjelmoidun ribosomaalisen kehyssiirtymän merkityksestä polyproteiinin avoimen lukukehyksen keskeisellä alueella joissakin hyttysiin liittyvissä flaviviruksissa.

**Tulos**

Uutta tietoa Flavivirusten evoluutiosta, taksonomiasta ja biogeografisesta historiasta, laajennettu analysoimalla kanonisia ja vaihtoehtoisia koodaavia sekvenssejä.

**Esimerkki 1.126**

Kumariineihin on kiinnitetty huomattavaa huomiota viimeisten kolmen vuosikymmenen aikana johtorakenteina suun kautta biologisesti käytettävissä olevien ei-peptidisten viruslääkkeiden löytämiseksi. Monien rakenteellisesti erilaisten kumariinianalogien havaittiin osoittavan huomattavaa affiniteettia erilaisiin molekyylikohteisiin viruslääkkeiden osalta, ja pienet muutokset keskusmotiivin ympärillä johtavat huomattaviin muutoksiin sen viruslääkkeiden spektrissä. Tässä käsikirjoituksessa tarkastellaan perusteellisesti kumariinianalogien suunnittelua, löytämistä ja rakenne-aktiivisuussuhdetutkimuksia viruslääkkeinä keskittyen pääasiassa johtavaan optimointiin ja sen kehittämiseen kliinisiksi ehdokkaiksi.

**Tulos**

Kumariinien terapeuttinen potentiaali viruslääkkeinä

**Esimerkki 1.127**

lyhyen puoliintumisajan, lääkeresistenssin ja ristireaktiivisuuden vuoksi HIV-tartunnan saaneiden potilaiden jo olemassa olevien vasta-aineiden kanssa. Suunnittelimme keinotekoisen peptidistrategian avulla peptidin, jolla oli ei-natiivinen proteiinisekvenssi, AP3, jolla oli voimakas antiviraalinen aktiivisuus monenlaisia HIV-1-kantoja vastaan, mukaan lukien T20:lle resistentit kannat, ja jolla oli huomattavasti pidempi in vivo puoliintumisaika kuin T20:llä. Vaikka HIV-tartunnan saaneiden potilaiden jo olemassa olevat vasta-aineet tukahduttivat merkittävästi T20:n antiviraalista aktiivisuutta, nämä vasta-aineet eivät tunnistaneet AP3:a eivätkä heikentäneet sen HIV-1-vastaista aktiivisuutta. Rakenteellisesti T20:stä poikkeava AP3 pystyi taittumaan single-helixiksi ja olemaan vuorovaikutuksessa gp41 NHR:n kanssa. AP3:n N-terminaalissa olevat kaksi jäännöstä, Met ja Thr, muodostavat koukun kaltaisen rakenteen, joka vakauttaa AP3:n ja NHR:n kierteiden välistä vuorovaikutusta. Näin ollen AP3:lla on potentiaalia jatkokehitykseen uutena HIV-fuusion estäjänä, jolla on enfuvirtidiin verrattuna parempi antiviraalinen teho, resistenssiprofiili ja farmakologiset ominaisuudet. Ihmisen immuunikatoviruksen tyypin 1 (HIV-1) kuoriglykoproteiini (Env) sisältää gp120-pinta-alayksikön ja gp41-transmembraanialayksikön. Luokan I transmembraaniproteiinina gp41:llä on merkittävä rooli HIV-1:n kalvofuusion ja viruksen pääsyn kannalta 1,2 . Sen jälkeen kun gp120 on sitoutunut solureseptoreihin, gp41:n konformaatio muuttuu sen jälkeen, kun fuusiopeptidi (FP) asettuu fuusioesimerkkiin

**Tulos**

HIV-fuusion estäjän AP3:n paremmat farmakologiset ja rakenteelliset ominaisuudet verrattuna enfuvirtidiin: keinotekoisen peptidistrategian edut korostuvat AVOIMAAN

**Esimerkki 1.128**

Pieneläinmallien käyttö tartuntatautien tutkimuksessa on ratkaisevan tärkeää taudin etenemisen ymmärtämiseksi sekä ennaltaehkäisevien ja terapeuttisten hoitovaihtoehtojen kehittämiseksi. Syyrialaiset kultahamsterit ovat osoittautuneet ihanteelliseksi eläinmalliksi monissa sairauksissa, koska ne ovat edullisia, pienikokoisia, helppokäyttöisiä ja kykenevät heijastamaan tarkasti taudin etenemistä ihmisessä. Vaikka hamstereiden käyttö ja suosio on lisääntynyt, hamsterin immuunivasteiden tutkimiseen ei ole vielä saatavilla riittävästi reagensseja. Ilman sopivia reagensseja immuunivasteiden arviointiin tutkijat joutuvat tutkimaan kliinisiä oireita ja tautipatologiaa. Tämä on ongelma rokotteiden ja hoitovaihtoehtojen kehittämisessä, jossa syntyvän immuunivasteen tyypin kuvaaminen on ratkaisevan tärkeää tautisuojan ymmärtämiseksi. Huolimatta hamsterissa käytettävien reagenssien suhteellisesta puutteesta on viime aikoina tapahtunut merkittävää edistystä, ja useita hamsterikohtaisia immunologisia menetelmiä on kehitetty. Tässä käsitellään tämän kehityksen edistymistä ja keskitytään klassisiin menetelmiin sekä uudempiin molekulaarisiin menetelmiin. Esitämme, mitä menetelmiä on tällä hetkellä saatavilla hamstereissa käytettäväksi ja mitä niistä käytetään mielellään, sekä kerromme, mitä rajoituksia on vielä olemassa ja mitä tulevaisuudennäkymiä hamstereille tarkoitettujen reagenssien ja määritysten kehittämisessä on. Tämä antaa arvokasta tietoa tutkijoille, jotka päättävät, pitäisikö hamsteria käyttää eläinmallina. Syyrialainen hamsteri - Kultainen hamsteri - Syyrialainen kultahamsteri - Immunologiset välineet - Molekulaariset menetelmät - Mesocricetus auratus - Eläinmallit.

**Tulos**

Syyrianhamsterit pieneläinmallina uusien tartuntatautien tutkimiseen: Immunologisten menetelmien edistysaskeleet

**Esimerkki 1.129**

Virusinfektio on monimutkainen biologinen ilmiö, josta in vitro -kokeet tarjoavat ainutlaatuisen tiiviin kuvan, jossa tiedot saadaan usein yhdestä solupopulaatiosta kontrolloiduissa ympäristöolosuhteissa. Tietojen tulkintaa ja viruksen dynamiikan todellista ymmärtämistä vaikeuttaa kuitenkin edelleen erilaisten toisiinsa kietoutuneiden tila- ja aikaprosessien monimutkaisuus. Tässä asiakirjassa esitellään työkalu, jolla voidaan ratkaista nämä ongelmat: soluautomaattimalli, joka kuvaa in vitro -virusinfektioiden kriittisiä näkökohtia ottaen huomioon viruksen leviämisen spatiaaliset ominaisuudet viljelykuopassa. Mallin tavoitteena on ymmärtää SARS-CoV-infektion dynamiikan keskeisiä mekanismeja ensimmäisten 24 tunnin aikana tartunnan jälkeen. Tarkastelemme mallia latinalaisen hyperkuution herkkyysanalyysin avulla selvittääksemme, mitkä mekanismit ovat kriittisiä isäntäsolujen havaitun infektion ja mitattujen viruspartikkelien vapautumisen kannalta.

**Tulos**

Simulaatiokehys in vitro -virusinfektiodynamiikan tutkimiseen

**Esimerkki 1.130**

Norjassa käynnistettiin vuonna 2016 kansallinen valvontaohjelma naudan hengitystieoireyhtymävirusta (BRSV) ja naudan koronavirusta (BCV) vastaan. Ohjelman keskeinen strategia on testata vasta-aineiden esiintyminen ja suojella testinegatiivisia karjaa tartunnalta. Koska nämä virukset ovat endeemisiä, uudelleen leviämisnopeus voi olla suuri, ja taudista vapaa asema muuttuu epävarmemmaksi, kun aikaa testauksesta kuluu. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli arvioida BRSV- ja BCV-vasta-aineista vapaan tilan todennäköisyys (PostPFree) ajan mittaan käyttämällä säiliömaidon (BTM) vasta-ainetestejä, maantieteellisiä tietoja ja eläinten liikkumista koskevia tietoja sekä validoida karjatason arviot myöhempien BTM-testausten perusteella. BTM-näytteitä kerättiin 1148 tutkimuskarjasta Länsi-Norjassa vuosina 2013 ja 2016, ja niistä analysoitiin BRSV- ja BCV-vasta-aineet. PostPFree laskettiin karjoille, jotka olivat negatiivisia vuosina 2013/2014, ja sitä päivitettiin säännöllisesti uusilla todennäköisyyksillä kolmen kuukauden välein. Syöttömuuttujia olivat testien herkkyys, eläinten oston kautta tapahtuvan tartunnan todennäköisyys ja paikallinen tartunta. Eläinten oston kautta tapahtuvan leviämisen todennäköisyys laskettiin käyttämällä todellisia eläinten siirtotietoja ja karjan esiintyvyyttä alkuperäkarjan alueella. Vuoden 2015 kolmen viimeisen kuukauden PostPFree-arvoja verrattiin maaliskuun 2016 BTM-testituloksiin Wilcoxonin Rank Sum -testillä. Vapauden todennäköisyys oli yleensä korkea testinegatiivisten karjojen osalta heti testin jälkeen, mikä kuvastaa testien suurta herkkyyttä. Se kuitenkin pieneni testeistä kuluneen ajan myötä, ja siihen vaikutti suuresti karjan hankinta. Kun verrattiin viimeisten kolmen kuukauden PostPFree-arvon mediaania vuoden 2016 testituloksiin, se oli merkittävästi pienempi (p < 0,01) testipositiivisten karjojen osalta. Lisäksi testipositiivisten karjojen osuudessa oli suuri ero PostPFree-arvon ensimmäisen ja neljännen kvartiilin välillä. Tulokset osoittavat, että PostPFree antaa paremman arvion karjatason BTM-statuksesta sekä BRSV:n että BCV:n osalta kuin mitä voidaan saavuttaa luottamalla pelkästään edelliseen testitulokseen.

**Tulos**

Tautivapauden todennäköisyyden estimointi karjatasolla sovellettuna nautojen hengitystieoireyhtymäviruksen ja naudan koronaviruksen valvontaohjelmaan Norjassa.

**Esimerkki 1.131**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) koronavirus (CoV) tunnistettiin akuutin hengitystieoireyhtymän aiheuttajaksi, joka aiheuttaa epätyypillistä keuhkokuumetta ja ripulia, joihin liittyy korkea kuolleisuus. On kehitetty erityyppisiä SARS-CoV-rokotteita, mukaan lukien ei-replikatiiviset ja vektoroidut rokotteet. Näiden rokotteiden antaminen eläinmallijärjestelmiin on osoittautunut lupaavaksi tehokkaiden ja turvallisten rokotteiden tuottamiseksi. Haittavaikutusten havaitseminen erityisesti iäkkäissä eläinmalleissa osoittaa kuitenkin, että on tarpeen kehittää uusia rokotteita, joita olisi testattava paremmissa eläinmallijärjestelmissä. Elävät heikennetyt virukset ovat yleensä osoittautuneet tehokkaimmiksi rokotteiksi virusinfektioita vastaan. SARS-CoV:n heikentäviä muutoksia on kuvattu rajoitettu määrä, mukaan luettuina mutaatiot ja osittaiset tai täydelliset geenien poistot, jotka vaikuttavat replikaasiin, kuten ei-rakenteellisiin proteiineihin (nsp1 tai nsp2), tai rakenteellisiin geeneihin, sekä jyrkkiä muutoksia sekvensseissä, jotka säätelevät viruksen subgenomisten mRNA:iden ilmentymistä. Laboratoriossamme kehitetty lupaava rokotekandidaatti perustui kuoren E geenin poistamiseen yksin tai yhdessä kuuden muun, viruksen replikaation kannalta epäolennaisen geenin poistamisen kanssa. Virukset, joista puuttui E-proteiini, olivat heikentyneitä, kasvoivat keuhkoissa ja antoivat homologisen ja heterologisen suojan. Tämän rokotekandidaatin parannukset on suunnattu virustitterien kasvattamiseen käyttämällä mutaatiofenotyyppisten virusten voimaa ja säilyttämällä samalla heikennetty fenotyyppi. Elävien SARS-CoV-rokotteiden turvallisuutta lisätään lisäämällä komplementaarisia muunnoksia geeneihin nsp1, nsp2 ja 3a, geenien sekoittamisella, jotta estetään virulentin fenotyypin pelastaminen rekombinaation avulla, tai synteettisen biologian avulla tapahtuvalla koodonien deoptimointiin perustuvalla rokotteen genomien uudelleenmuotoilulla. Äskettäin tuotettu rokote

**Tulos**

Rekombinanttirokotteet, jotka suojaavat vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirukselta.

**Esimerkki 1.132**

Terveydenhuollon työntekijät muodostivat suuren osan vakavaan akuuttiin hengitystieoireyhtymään (SARS) sairastuneista henkilöistä vuoden 2003 alussa puhjenneen maailmanlaajuisen epidemian aikana. Teimme tutkimuksen terveydenhuollon työntekijöistä, jotka altistuivat laboratoriossa vahvistetuille SARS-potilaille Yhdysvalloissa, arvioidaksemme infektioiden hallintakäytäntöjä ja SARS-virukseen liittyvän koronaviruksen (SARS-CoV) mahdollista leviämistä. Tunnistimme 110 terveydenhuollon työntekijää, jotka olivat altistuneet pisaraetäisyydellä (eli kolmen metrin etäisyydellä) kuudelle SARS-CoV-positiiviselle potilaalle. Neljäkymmentäviisi terveydenhuollon työntekijää oli altistunut ilman maskin käyttöä, 72 työntekijää oli altistunut ilman silmien suojausta ja 40 työntekijää ilmoitti suorasta ihokontaktista. Mahdollisia pisaroita ja aerosoleja aiheuttavia toimenpiteitä oli harvoin: Viisi prosenttia terveydenhuollon työntekijöistä manipuloi potilaan hengitysteitä, ja neljä prosenttia antoi aerosolimuotoisia lääkkeitä. Huolimatta lukuisista suojaamattomista altistumisista ei ollut serologista näyttöä terveydenhuoltoon liittyvästä SARS-CoV:n leviämisestä. Tartuntojen puuttuminen Yhdysvalloissa saattaa liittyä siihen, että Yhdysvalloissa ei ole suhteellisen vähän korkean riskin toimenpiteitä tai potilaita, mikä saattaa altistaa terveydenhuollon työntekijät suuremmalle tartuntariskille.

**Tulos**

SARSin tarttumisen puuttuminen terveydenhuollon työntekijöiltä, Yhdysvallat SARSin puhkeaminen SARSin puhkeaminen Etsi EID:n aiempia numeroita osoitteessa www.cdc.gov/eid.

**Esimerkki 1.133**

Kliinisin, morfologisin ja immunologisin menetelmin tutkittiin kissojen spontaania neurologista sairautta, jolle oli ominaista käyttäytymis- ja liikehäiriöt. Neuropatologinen tutkimus osoitti merkittävää tulehdusreaktiota aivojen leptomeningissä ja aivojen harmaassa aineessa. Valkoisessa aineessa reaktio oli kohtalainen. Muutokset koostuivat mononukleaaristen solujen aiheuttamista perivaskulaarisista manseteista ja hermosoluvaurioista. Aivorunko (talamus, mesencephalon, caudal colliculus) oli pahimmin vaurioitunut. Selkäydin ja sen leptomeninges olivat vähemmässä määrin vaurioituneet. Histopatologinen kuva ja laboratoriolöydökset viittaavat viruksen aiheuttamaan tautiin. Taudin morfologia ja serologiset sekä immunohistokemialliset tulokset osoittavat, että tämä sairaus eroaa aiemmin tunnetuista kissojen virusperäisistä enkefaliteeteista.

**Tulos**

Kissan ei-supporatiivinen meningoenkefalomyeliitti. Kliininen ja patologinen tutkimus

**Esimerkki 1.134**

Sarja tiatsoli-kerhoon sidottuja 1,3,4-oksadiatsolijohdannaisia (5ael) on syntetisoitu ja karakterisoitu IR-, 1 H NMR-, 13 C NMR- ja massaspektrianalyysillä. Syntetisoituja yhdisteitä arvioitiin niiden antimikrobisen ja sytotoksisen aktiivisuuden osalta. Tulokset osoittivat, että yhdisteet 5c ja 5i osoittivat voimakkainta antibakteerista aktiivisuutta. Yhdiste 5f osoittautui voimakkaimmaksi sienilääkkeeksi. Rakenne-aktiivisuussuhde osoitti, että elektronia vetävien ryhmien läsnäolo fenyylirenkaan para-asemassa lisäsi huomattavasti syntetisoitujen yhdisteiden antibakteerista aktiivisuutta. Lisäksi HeLa-soluilla tehtyjen alustavien MTT-sytotoksisuustutkimusten tulokset osoittivat, että 5b:n, 5c:n, 5f:n, 5h:n ja 5i:n voimakkaaseen antimikrobiseen aktiivisuuteen liittyy alhainen sytotoksisuus.

**Tulos**

Joidenkin uusien tiatsoli-kerhoon sidottujen 1,3,4-oksadiatsolien synteesi, antimikrobiset ja sytotoksiset vaikutukset

**Esimerkki 1.135**

Siitä lähtien, kun SARS-CoV löydettiin vuonna 2003, lukuisat tutkijat ympäri maailmaa ovat työskennelleet väsymättä tämän viruksen biologian ymmärtämiseksi. Kuten muissakin koronaviruksissa, nukleokapsidi (N) on yksi SARS-CoV:n tärkeimmistä rakenneosista. Siksi suuri huomio on kiinnitetty tämän proteiinin karakterisointiin. Useiden laboratorioiden tekemät riippumattomat tutkimukset ovat selvittäneet merkittävästi tämän proteiinin ensisijaista tehtävää, joka on viruksen genomin kapsidointi. Lisäksi monet raportit viittaavat siihen, että tämä proteiini häiritsee erilaisia solupolkuja, mikä viittaa siihen, että se on myös viruksen keskeinen säätelykomponentti. Tämän katsauksen ensimmäisessä osassa käsittelemme näitä N-proteiinin eri ominaisuuksia kootusti. Lisäksi tätä proteiinia on ehdotettu tehokkaaksi diagnostiseksi välineeksi ja rokotekandidaatiksi SARS-CoV:tä vastaan. Tämän artikkelin lopussa käsittelemme joitakin viimeaikaisia edistysaskeleita, jotka liittyvät N-proteiinin mahdolliseen kliinisesti merkitykselliseen käyttöön. #

**Tulos**

SARS-CoV:n nukleokapsidiproteiini: Proteiini, jolla on monenlaisia toimintoja

**Esimerkki 1.136**

Bangladeshissa on esiintynyt erilaisia tauteja, jotka johtuvat patogeenisten mikro-organismien luonnollisesta leviämisestä ympäristöön. Vaikka näiden tautien parantaminen riippuu suurelta osin lääkäreiden lääkitysstrategioista, on myös olennaista määrittää syyt tautien jatkumiselle ja uudelleeninfektioiden alkamiselle. Tavallisten sairauksien rutiinidiagnoosi merkitsee yleensä hoitoa erilaisilla asianmukaisilla lääkkeillä; näiden lääkkeiden epäonnistuminen mikro-organismien lääkeresistenssin ja sairauksien etiologiaa koskevan valppauden puutteen vuoksi johtaa kuitenkin usein kohtalokkaisiin seurauksiin. Tässä katsauksessa raportoidaan Bangladeshissa ilmenevistä uusista taudeista ja keskitytään niihin liittyvään mikrobiologiseen tutkimukseen, joka koskee meneillään olevia tauteja, kuten suolisto- ja virtsatietulehduksia sekä malarian aiheuttamia komplikaatioita. Lisäksi käsitellään hankittuun immuunipuutosoireyhtymään ja hepatiittiin liittyviä viruksia.

**Tulos**

Bangladeshissa puhkeavat taudit: Bangladesh: Nykyinen mikrobiologisen tutkimuksen näkökulma

**Esimerkki 1.137**

Taustaa: A-pandemian influenssaviruksen saaneiden potilaiden vakavan sairauden syy on epäselvä. Menetelmä/päälöydökset: Esitämme soluvälitteisen immunologisen profiilin veressä ja yksityiskohtaiset kliiniset (ja post mortem) löydökset kolmesta potilaasta, joilla oli nopeasti etenevä infektio, mukaan lukien raskaana oleva potilas, joka kuoli. Silmiinpistävä havainto on luonnollisten tappajasolujen (NK-solujen) väheneminen, mutta aktivoituneiden efektori-CD8-T-lymfosyyttien säilyminen; viraemiaa esiintyi potilaalla, jolla ei ollut NK-soluja. Vertailu kontrolliryhmiin viittaa siihen, että NK-solujen väheneminen on ainutlaatuista näille vakavasti sairaille potilaille. Päätelmät/merkitys: Raporttimme osoittaa, että NK-solujen määrä on selvästi vähentynyt kolmella potilaalla, joista otimme näytteen, ja se herättää hypoteesin, että NK-soluilla voi olla T-lymfosyyttejä merkittävämpi rooli virustaakan hallinnassa, kun isäntä kohtaa uuden influenssa A -viruksen alatyypin.

**Tulos**

Luonnollisten tappaja- mutta ei efektori-CD8 T-lymfoyttien väheneminen kolmessa peräkkäisessä vakavassa/kuolemaan johtavassa H1N1/09-influenssa A -virusinfektiossa.

**Esimerkki 1.138**

Ripuli on yksi yleisimmistä mikrobilääkkeiden käytön ja kuolleisuuden syistä nuorilla vasikoilla. Mikrobilääkkeiden käytön ja resistenssin vähentämiseksi maitotiloilla on tarpeen tutkia vasikoiden ripulin vaihtoehtoisia hoitomuotoja. Laboratoriomme suoritti aiemmin satunnaistetun kliinisen tutkimuksen, jossa tutkittiin ternimaidossa esiintyvän rautaa sitovan proteiinin, laktoferriinin, tehokkuutta vasikan ripulin hoidossa. Tutkimus osoitti, että laktoferriiniä saaneiden, ripuliinin sairastuneiden vasikoiden kuolleisuus väheni merkittävästi. Näin ollen tämän tutkimuksen tavoitteena oli vahvistaa aikaisemman kliinisen tutkimuksemme tulokset useilla tiloilla ja tutkia laktoferriinin vaikutusta vieroitettujen vasikoiden sairastuvuuteen ja kuolleisuuteen, kun vasikat sairastuvat luonnollisesti ripuliin. Tämä satunnaistettu kenttäkoe tehtiin viidellä kaupallisella maitotilalla Ohiossa. Kaikkiaan 485 vasikkaa (≤21 d:n ikäisiä) otettiin mukaan ensimmäisen ripulidiagnoosin yhteydessä (ulostepisteet ≥2, jotka määriteltiin löysäksi tai vetiseksi), ja ne satunnaistettiin saamaan suun kautta annos laktoferriiniä (3 g laktoferriinijauhetta liuotettuna 30 ml:aan vettä) tai 30 ml vettä (kontrolli) kerran päivässä kolmena peräkkäisenä päivänä. Terveydentila arvioitiin ripulin diagnoosipäivänä (d 0) ja 1, 2, 3, 7, 14, 21, 28 ja 35 päivää diagnoosin jälkeen. Tuottajien tiedot taudin hoidosta ja kuolleisuudesta kerättiin 120 d diagnoosin jälkeen. Poissonin regressiomallia käytettiin testaamaan hoitojen välisiä eroja tautien esiintymistiheydessä 35 d:n ajan ripulidiagnoosin jälkeen sekä hoidon ilmaantuvuusriskiä ja kuolleisuusriskiä 120 d:n ajan ripulidiagnoosin jälkeen; malli kontrolloi vasikoiden ikää ilmoittautumisajankohtana, tilaa ja hoitoa. Vasikoiden keski-ikä ilmoittautumisajankohtana oli 11 päivää ja vaihteli 1-26 päivän iästä. Tutkimukseen ilmoittautuessa 51,3 %:lla (123/240) ja 52,2 %:lla (128/245) vasikoista kontrolliryhmässä ja laktoferriinihoitoryhmässä diagnosoitiin vakava ripuli (ulostepisteet = 3). Sairauden esiintymistiheys (ripuli, kuivuminen, masennus, hengitystiesairauden merkit) 35 vuorokautta ripulidiagnoosin jälkeen ei eronnut merkittävästi laktoferriini- ja kontrolliryhmien vasikoilla. Rekisteröityjen vasikoiden kokonaiskuolleisuusriski oli 9,9 %, ja laktoferriiniryhmässä 10,7 % (22/243) ja kontrolliryhmässä 9,1 % (26/242) vasikoista kuoli tai lopetettiin 120 päivän kuluessa ripulin toteamisesta. Kuoleman tai teurastuksen suhteellinen riski ei kuitenkaan eronnut hoitoryhmien välillä. Näin ollen tässä tutkimuksessa laktoferriinistä ei ollut hyötyä vasikkaripulin hoidossa.

**Tulos**

Monipaikkainen satunnaistettu kenttäkoe, jossa arvioidaan laktoferriinin vaikutusta ripulista kärsivien lypsävasikoiden sairastuvuuteen ja kuolleisuuteen.

**Esimerkki 1.139**

Arvioidaan, mikä merkitys tilallisella läheisyydellä, joka määritellään potilaiden yhteisiksi potilashuoneiksi, on noroviruksen leviämiselle sairaaloissa esiintyvien taudinpurkausten aikana. Norovirusepidemioiden tehostettu seuranta marraskuun 2009 ja marraskuun 2011 välisenä aikana. Tietoja kerättiin 149 norovirusepidemian aikana sairaalaosastoilla viidessä sairaalassa kahdessa suuressa englantilaisessa kaupungissa, joissa on 2 miljoonan asukkaan sairaala. Käytimme kunkin taudinpurkauksen kahden ensimmäisen tapauksen välistä aikaa arvioidaksemme noroviruksen sarjaväliä tässä ympäristössä. Tätä jakaumaa ja sairastumisen alkamispäivämääriä käytettiin kunkin taudinpurkauksen epidemiapuiden laskemiseen. Tämän jälkeen käytimme permutaatiotestiä arvioidaksemme, oliko läheisyys kaikkien taudinpurkausten osalta äärimmäisempi kuin mitä olisi odotettavissa sattumalta, jos nollahypoteesi on, että läheisyys ei liity tartuntariskiin. Kuusikymmentäviisi taudinpurkausta sisälsi täydelliset tiedot sekä taudinpurkauksen alkamisajankohdasta että osaston sijainnista. Arvioimme sarjavälin olevan 1,86 päivää (95 prosentin luottamusväli 1,6-2,2 päivää), ja tällä arvolla löysimme vahvaa näyttöä nollahypoteesin hylkäämisestä, jonka mukaan läheisyydellä ei ollut merkitystä (p < 0,001). Herkkyysanalyysi, jossa käytettiin erilaisia sarjavälin arvoja, osoitti, että nollahypoteesi voitiin hylätä, jos oletettu sarjaväli oli alle 2,5 päivää. Tuloksemme osoittavat, että potilailla, jotka asuvat samassa osastossa kuin potilaat, joilla on oireinen norovirusinfektio, on suurempi riski saada tartunta näiltä potilailta kuin potilailla muualla samalla osastolla.

**Tulos**

Ohjaako alueellinen läheisyys noroviruksen leviämistä sairaaloiden taudinpurkausten aikana? Title Ohjaako alueellinen läheisyys noroviruksen leviämistä sairaaloiden taudinpurkausten aikana?

**Esimerkki 1.140**

Enteroviruksen aiheuttaman suu- ja sorkkataudin (HFMD) passiivisen immunoterapian hyödyntämiseksi tutkittiin in vitro enterovirus 71:n (EV71) ja coxsackievirus A16:n (CVA16) neutraloivan vasta-aineen ristikkäistä antiviraalista aktiivisuutta. Valkoisen leghornin spesifisistä patogeeneistä vapaat kanat immunisoitiin EV71-antigeeneillä, ja kananmunan keltuaisesta valmistettiin spesifinen eristetty immunoglobuliini (IgY). IgY puhdistettiin edelleen ja karakterisoitiin SDS-PAGE:lla, ELISA:lla, western blottingilla ja kaksisuuntaisella immuuniagar-diffuusiotestillä. IgY:n antiviraalinen aktiivisuus ja annos-vaste määritettiin arvioimalla sytopaattinen vaikutus rabdomyosarkooma (RD) -soluissa in vitro. Osoittautui, että IgY-tasot kasvoivat 7. päivänä, saavuttivat huippunsa 7. viikolla ja pysyivät korkeammalla tasolla 4 viikkoa immunisoinnin jälkeen verrattuna negatiiviseen kontrolliin. Western blotting- ja kaksisuuntaisen immuuniagar-diffuusiokokeen tulokset osoittivat, että IgY:llä oli ristisidontaominaisuuksia EV71- ja CVA16-kannoissa kohdistamalla se EV71:n ja CVA16:n kuoriproteiineihin (VP0, VP1 ja VP3). Neutralisaatiomäärityksen tulokset osoittivat, että IgY esti EV71- ja CVA16-kantojen infektiivisyyden RD-soluissa annosriippuvaisesti. Yhteenvetona voidaan todeta, että nämä havainnot osoittavat, että IgY:llä on ristikkäistä antiviraalista aktiivisuutta EV71- ja CVA16-kantoja vastaan in vitro, ja sitä voitaisiin mahdollisesti kehittää passiiviseksi immunoterapiaksi EV71- ja CVA16-indusoitua HFMD:tä vastaan.

**Tulos**

Enterovirustyypin 71 immunisoidulla kananmunankeltuaisen immunoglobuliinilla on ristikkäistä antiviraalista aktiivisuutta coxsackievirus A16:ta vastaan in vitro.

**Esimerkki 1.141**

Sen jälkeen, kun ensimmäiset tapaukset ilmaantuivat Wuhanissa, Kiinassa, uusi koronavirusinfektio (2019-nCoV) on levinnyt nopeasti muihin maakuntiin ja naapurimaihin. Peruslisääntymisluvun arvioiminen matemaattisen mallintamisen avulla voi olla hyödyllistä määritettäessä taudinpurkauksen potentiaalia ja vakavuutta ja tarjota kriittistä tietoa tautitoimenpiteiden tyypin ja voimakkuuden tunnistamiseksi. Taudin kliiniseen etenemiseen, yksilöiden epidemiologiseen tilaan ja interventiotoimenpiteisiin perustuva deterministinen lokeromalli laadittiin. Todennäköisyys- ja mallianalyysiin perustuvat arviot osoittavat, että kontrollin lisääntymisluku voi olla jopa 6,47 (95 prosentin CI 5,71-7,23). Herkkyysanalyysit osoittavat, että toimenpiteet, kuten intensiivinen kontaktien jäljittäminen, jota seuraa karanteeni ja eristäminen, voivat tehokkaasti vähentää kontrollin lisääntymislukua ja tartuntariskiä, ja Wuhanin hyväksymän matkustusrajoituksen vaikutus 2019-nCoV-tartuntaan Pekingissä vastaa lähes karanteenin korottamista 100 tuhannella perusarvolla. On olennaisen tärkeää arvioida, miten Kiinan viranomaisten toteuttamat kalliit ja resursseja vaativat toimenpiteet voivat edistää 2019-nCoV-tartunnan ehkäisyä ja valvontaa ja kuinka kauan niitä olisi pidettävä yllä. Rajoittavimmilla toimenpiteillä taudinpurkauksen odotetaan saavuttavan huippunsa kahden viikon kuluessa (23. tammikuuta 2020 alkaen), ja sen huippuarvo on huomattavan alhainen. Kun matkustusrajoituksia sovelletaan (altistuneita henkilöitä ei saa tuoda Pekingiin), tartunnan saaneiden henkilöiden määrä vähenee Pekingissä seitsemässä päivässä 91,14 prosenttia verrattuna skenaarioon, jossa matkustusrajoituksia ei sovelleta.

**Tulos**

Kliininen lääketiede 2019-nCoV:n leviämisriskin arviointi ja sen vaikutukset kansanterveystoimiin

**Esimerkki 1.142**

Tausta Hengitystieinfektiot ovat maailmanlaajuisesti tärkein sairauksien syy kehitysmaissa, erityisesti lasten keskuudessa, mutta monien näiden sairauksien etiologinen aiheuttaja on harvoin tunnistettu. Tavoitteet Tutkimuksemme tarkoituksena oli arvioida ihmisen bocavirusinfektion (HBoV) esiintyvyyttä Argentiinan, Nicaraguan ja Perun lapsiväestössä. Menetelmät Teimme poikkileikkaustutkimuksen käyttäen influenssan kaltaisten sairauksien seurantaohjelman tallennettuja näytteitä. Aiemmasta diagnoosista riippumatta nenä-nielu- tai nenänielunäytteet valittiin satunnaisesti ja testattiin reaaliaikaisella PCR:llä kolmesta paikasta vuoden 2007 aikana alle 6-vuotiailta potilailta. Tulokset Testattiin yhteensä 568 näytettä Argentiinasta (185), Nicaraguasta (192) ja Perusta (191). HBoV:n esiintyvyys oli 10AE8 % (95 % CI: 6AE3; 15AE3) Argentiinassa, 33AE3 % Nicaraguassa (95 % CI: 26AE6; 40AE1) ja 25AE1 % Perussa (95 % CI: 18AE9; 31AE3). Johtopäätökset Nämä tulokset osoittavat HBoV:n leviävän Argentiinassa, Nicaraguassa ja Perussa niiden lasten keskuudessa, joilla oli influenssan kaltaisia oireita ja jotka olivat osallistuneet sentinelliseurantaohjelmaan. Avainsanat Epidemiologia, ihmisen bocavirus, hengitystiesairaudet. Please cite this paper as: Salmó n-Mulanovich et al. (2011) Frequency of human bocavirus (HBoV) infection among children with febrile respiratory symptoms in Argentina, Nicaragua and Peru. Influenza and Other Respiratory Viruses 5(1), 1-5.

**Tulos**

Ihmisen bocavirusinfektion (HBoV) esiintyvyys kuumeisista hengitystieoireista kärsivien lasten keskuudessa Argentiinassa, Nicaraguassa ja Perussa.

**Esimerkki 1.143**

Virusinfektion jälkeen isäntäsolut reagoivat viruksen vastaiseen stressivasteeseen luodakseen viruksen replikaatiolle vihamielisen ilmapiirin, mikä johtaa mRNA:n translaation (proteiinisynteesin) pysäyttämiseen ja RNA-granulaattien kokoamiseen. Hiiva- ja nisäkässoluissa on hyvin karakterisoitu kaksi näistä RNA-rakeista, stressirakeet (SG), jotka ovat translaatiohiljaisia RNA:n triagointipaikkoja, ja prosessointirakeet (PB), jotka osallistuvat mRNA:n hajoamiseen. Tässä katsauksessa käsitellään näiden RNA-granulaattien roolia virusten vastaisten stressivasteiden kiertämisessä solun ribonukleoproteiinien (RNP) viruksen aiheuttaman uudelleenmuotoilun kautta.

**Tulos**

virukset Kuka säätelee ketä? Yleiskatsaus RNA-rakeisiin ja virusinfektioihin

**Esimerkki 1.144**

Autofagia on keskeinen synnynnäinen immuunivaste solunsisäisiä loisia vastaan, joka edistää niiden kuljettamista hajottaviin lysosomeihin sen jälkeen, kun ne on havaittu sytosolissa tai vaurioituneissa vakuoleissa. Kuten Listeria ja Shigella, jotka käyttävät erityisiä mekanismeja välttääkseen autofagisen havaitsemisen ja vangitsemisen, Francisella tularensis -bakteeripatogeeni lisääntyy makrofagien sytosolissa ilman autofagian osoittamaa valvontaa. Tutkiaksemme, miten Francisella kiertää autofagiaa, seuloimme F. tularensis subsp. tularensis Schu S4 HimarFT -transposonimutaatioiden kirjastoa GFP-LC3:aa ilmentävissä hiiren makrofageissa mikroskopoimalla kloonien löytämiseksi, jotka ovat paikallistuneet autofagisiin vakuoleihin sen jälkeen, kun ne ovat päässeet pakenemaan fagosomista. Yksitoista kloonia osoitti autofagista kiinnittymistä kuuden tunnin kuluttua tartunnasta, ja niiden HimarFT-insertiot klusteroituivat neljään geneettiseen lokukseen, jotka osallistuvat lipopolysakkaridien ja kapselin O-antigeenin biosynteesiin. HimarFT-mutanttien kanssa yhdenmukaisesti kahden edustavan lokuksen, FTT1236:n ja FTT1448c:n (manC), in-frame-deleetio-mutantit, joista puuttui sekä LPS- että kapselin O-antigeeni, pakenivat fagosomaalisesti, mutta puhdistettiin isännän sytosolista. Toisin kuin villityyppinen Francisella, O-antigeenin poistomutantit olivat ubikvitinoituneita ja rekrytoivat autofagia-adapterin p62/SQSTM1 ja LC3:n ennen sytosolista poistumista. Autofagiapuutteiset makrofagit tukivat osittain molempien mutanttien lisääntymistä, mikä osoittaa, että O-antigeenipuutteiset Francisellat ovat autofagian hallinnassa. Nämä tiedot osoittavat tämän bakteerien pinnan polysakkaridin solunsisäisen suojaavan roolin autofagiaa vastaan.

**Tulos**

Francisella O-antigeeni välittää selviytymistä makrofagien sytosolissa autofagian välttämisen kautta NIH Public Access

**Esimerkki 1.145**

Analysoida hengitysteiden kausiluonteisten virusinfektioiden kulkua 16 turkkilaisen keskuksen lasten tehohoitoyksiköissä (PICU) sairaalahoidossa olevilla potilailla. Materiaalit ja menetelmät: Se on retrospektiivinen, havainnointi- ja monikeskustutkimus, joka on tehty 16 tertiäärisessä PICU-yksikössä Turkissa, sisältää yhteensä 302 lasta, joilla on virusperäinen syy nenän pyyhkäisyyn, joka vaati PICU-yksikköön ottamista ilman toimenpiteitä. Tulokset: Potilaiden keski-ikä oli 12 kuukautta. Hengitystieinfektiovirus (RSV) oli yleisempi yli vuoden ikäisillä potilailla, kun taas influenssa ja ihmisen bocavirus olivat yleisempiä yli vuoden ikäisillä potilailla (p <0,05). Kuolleisuuteen vaikuttavia kliinisiä oireita olivat neurologiset oireet, takykardia, hypoksia, hypotensio, kohonnut laktaatti ja asidoosi. Kuolleisuuteen liittyvä kriittinen pH-arvo oli ≤7,10 ja kriittinen PCO 2 ≥60 mm Hg. Päätelmät: Tuloksemme osoittavat, että potilailla, joilla on neurologisia oireita, takykardiaa, hypoksiaa, hypotensiota, asidoosia, heikentynyt maksa- ja munuaistoiminta sisäänottohetkellä, on vakavampi kuolemaan johtava eteneminen. Asidoosin ja usean elimen vajaatoiminnan todettiin ennustavan kuolleisuutta. Kliinisen oireilun tuntemus ja ikäsidonnaiset vaihtelut kausivirusten välillä voivat antaa viitteitä vakavasta kulusta ja ennusteesta. Esittämällä 302:n PICU:lle otetun potilaan analysoidut tiedot tämä tutkimus paljastaa virusperäisten hengitystieinfektioiden vakavuuden ja antaa vinkkejä niiden käsittelyyn.

**Tulos**

Kokonaisvaltainen analyysi vakavista hengitysteiden virusinfektioista, jotka on otettu PICU-yksiköihin talvikauden aikana Turkissa.

**Esimerkki 1.146**

Vaikka fretti on arvokas eläinmalli useille ihmisen virusinfektioille, kuten influenssalle, Hendralle ja Nipahille, soluvälitteisen immuunivasteen arviointia infektion jälkeen on haitannut useiden lajikohtaisten immunologisten reagenssien puute. Interleukiini 2 (IL-2) on yksi tällainen keskeinen sytokiini. Frettien rekombinantti IL-2, joka sisältää C-terminaalisen histidiinimerkin, ekspressoitiin ja puhdistettiin, ja kolmiulotteinen rakenne ratkaistiin ja tarkennettiin 1,89 Å:n röntgenkristallografialla, mikä on korkeimman resoluution omaava ja ensimmäinen ei-ihmisen IL-2:n rakenne. Vaikka fretin IL-2:ssa on klassinen sytokiinipoimu eli neljän kierteisen nipun rakenne, havaittiin konformaatiojoustavuutta toisessa kierteessä ja sen viereisellä alueella nipussa, mikä voi johtaa reseptorin sitoutumisvuorovaikutuksiin osallistuvien jäännösten tilajärjestyksen häiriintymiseen, mikä viittaa hienovaraisiin eroihin fretin ja ihmisen IL-2:n välillä biologisten toimintojen käynnistämisessä. Frettien rekombinantti IL-2 stimuloi frettien imusolmukesolujen proliferaatiota ja indusoi IFN-g:n ja Granzyme A:n mRNA:n ilmentymistä. Kruunu

**Tulos**

Frettien interleukiini-2:n rakenteellinen ja toiminnallinen karakterisointi

**Esimerkki 1.147**

Taustaa: HCoV-OC43-infektioita on kuitenkin harvoin tutkittu terveydenhuoltoon liittyvinä infektioina tässä väestössä, vaikka hengitysteiden virusinfektiot ovat tunnetusti yleinen sairauden syy hematopoieettisen kantasolusiirron (HSCT) vastaanottajilla. Tavoitteet: Tässä raportissa HSCT-potilailta kerätyt HCoV-OC43-isolaatit karakterisoitiin takautuvasti sellaisten mahdollisten infektiokeskittymien tunnistamiseksi, jotka voivat viitata sairaalainfektioon. Tutkimusasetelma: Koko genomin ja S-geenin sekvenssit saatiin nenän pyyhkäisynäytteistä seuraavan sukupolven sekvensoinnilla ja muodostettiin fylogeneettiset puut. Potilaiden sekvenssien klustereiden vertailussa käytettiin samankaltaisuusmatriisia ja yhteisen esi-isän määrittämistä. Aminohappojen substituutiot analysoitiin. Tulokset: Genotyypit B, E, F ja G tunnistettiin. Kronologisten tietojen ja fylogeneettisten puiden perusteella määritettiin kaksi potilasklusteria. S-proteiinisekvenssien aminohappojen substituutioiden analyyseissä havaittiin substituutioita, jotka ovat ominaisia eurooppalaisten keskuudessa kiertäville genotyypin F kannoille. Päätelmät: HCoV-OC43 voi olla osallisena terveydenhuoltoon liittyvissä infektioissa.

**Tulos**

Koko genomin sekvensoinnin käyttö hoitoon liittyvien HCoV-OC43-infektioiden molekyylitutkimuksessa hematopoieettisen kantasolusiirron yksikössä.

**Esimerkki 1.148**

Ankkaviruksen aiheuttama suolistotulehdus (DVE) on akuutti, tarttuva herpesvirusinfektio, joka tarttuu kaikenikäisiin ja -lajisiin ankkoihin, hanhiin ja joutseniin. Tämä tauti on aiheuttanut merkittäviä taloudellisia tappioita kotieläiminä pidetyille ja luonnonvaraisille vesilinnuille kuolleisuuden ja munantuotannon vähenemisen vuoksi. Resveratroli on tietyissä kasveissa luonnostaan esiintyvä fytoaleksiini, jolla on inhiboiva vaikutus moniin virustyyppeihin. Tässä tutkimuksessa resveratrolin havaittiin estävän ankan enteritisviruksen (DEV) lisääntymistä annosriippuvaisesti, ja 50 prosentin estopitoisuus oli 3,85 mg/ml. Viruksen lisääntymisen estyminen resveratrolin läsnä ollessa ei johtunut viruksen suorasta inaktivoitumisesta tai viruksen kiinnittymisen estymisestä isäntäsoluihin, vaan viruksen lisääntymisen estymisestä isäntäsoluissa. Lisäysajankohdan määritys rajoitti lääkkeen vaikutusta infektion ensimmäisten 8 tunnin aikana. Tätä päätelmää tukivat DEV-infektion alkuvaiheen ultrastruktuurikuvat, jotka osoittivat, että viruksen nukleiinihapon replikaatio ja kapsidin muodostuminen solun tumaan tukahdutettiin. Epäsuorassa immunofluoresenssimäärityksessä proteiinien ilmentyminen DEV-infektoituneissa ankan alkion fibroblasteissa (DEF) 24 tunnin kuluessa infektion jälkeen (p.i.) tukahdutettiin myös tehokkaasti resveratrolilla. Yhteenvetona voidaan todeta, että resveratrolilla on hyvä aktiivisuus DEV-infektiota vastaan in vitro, mikä voi johtua siitä, että resveratrol vaikutti useisiin viruksen replikaation kannalta välttämättömiin välittömiin varhaisiin virusproteiineihin.

**Tulos**

Resveratrolin inhiboiva vaikutus ankka-suolikanavan tulehdusvirusta vastaan In Vitro

**Esimerkki 1.149**

Immuunivasteet ovat kaksiteräinen miekka. Tehokkaat ja asianmukaiset immuunivasteet, jotka pystyvät hallitsemaan virusinfektiota ja samalla säilyttämään kudoksen eheyden, ovat elintärkeitä isännän selviytymisen kannalta. Liian voimakkaat immuunivasteet voivat johtaa immuunipatologiaan, kun taas liian heikot immuunivasteet voivat aiheuttaa viruksen pysyvyyttä. Fysiologiseen ikääntymiseen liittyy immuunijärjestelmän normaalin toiminnan heikkeneminen, jota kutsutaan "immunosenessenssiksi". Osoitamme, että iäkkäät hiiret (16-19 kuukauden ikäiset) ovat vastustuskykyisempiä influenssa A -virusinfektiota (IAV) vastaan kuin nuoret hiiret. Nuorten hiirten voimakkaat immuunivasteet IAV-infektion jälkeen johtavat viruksen nopeampaan poistumiseen, mutta aiheuttavat myös vakavia keuhkovaurioita ja korkeamman kuolleisuuden. Iäkkäillä hiirillä viivästyneet ja lievemmät immuunivasteet vähentävät keuhkovaurioita, ja ne pystyvät edelleen poistamaan infektion hitaammallakin kinetiikalla, ja niillä on vastustuskykyisempi fenotyyppi IAV-infektion aikana. Näin ollen työmme osoittaa, että maltilliset immuunivasteet, jotka heikkenevät ikääntymisen myötä ikääntyneissä hiirissä, tasapainottavat immuunipatologiaa ja viruksen puhdistumista ja saattavat olla isännän kannalta hyödyllisiä tietyissä olosuhteissa. Tuloksemme tarjoavat tärkeän näkemyksen perustietämykseemme immunosenessenssistä ja immuunipuolustuksesta tunkeutuvia patogeenejä vastaan. Lisäksi tuloksemme osoittavat, että ikätekijät olisi otettava huomioon, kun tutkitaan rokotus- ja hoitostrategioita vakavaa IAV-infektiota varten.

**Tulos**

Ikääntyneet hiiret ovat vastustuskykyisempiä influenssaviruksen aiheuttamalle infektiolle vähentyneen tulehduksen ja keuhkojen patologian vuoksi.

**Esimerkki 1.150**

Arkeaalinen eksosomi on fosforolyyttinen 3 -5 eksoribonukleaasikompleksi. Se syntetisoi käänteisreaktiossa A-rikkaita RNA:n häntiä. Sen RNA:ta sitovaan kanteen kuuluvat eukaryoottiset ortologit Rrp4 ja Csl4 sekä arkeologinen alayksikkö, joka on annotoitu DnaG:ksi. Sulfolobus solfataricus -bakteerissa DnaG ja Rrp4, mutta ei Csl4, suosivat poly(rA):ta. Arkeaalinen DnaG sisältää N- ja C-terminaalisia domeeneja (NTD ja CTD), joiden funktio on tuntematon ja jotka reunustavat TOPRIM-domeenia. Havaitsimme, että NT- ja TOPRIM-domeenit ovat vertailukelpoisia ja hyvin säilyneitä kaikissa arkeoissa, kun taas CTD:n säilyminen korreloi eksosomin läsnäolon kanssa. Osoitamme, että NTD on uusi RNA:ta sitova domeeni, jolla on poly(rA)-preferenssi ja joka toimii yhteistyössä TOPRIM-domeenin kanssa RNA:n sitoutumisessa. Johdonmukaisesti fuusioproteiini, joka sisälsi täyspitkän Csl4:n ja DnaG:n NTD:n, johti A-rikkaan RNA:n tehostuneeseen hajoamiseen eksosomin toimesta. Havaitsimme myös, että DnaG sitoo voimakkaasti natiivia ja in vitro transkriptoitua rRNA:ta ja mahdollistaa sen polynukleotidylaation eksosomissa. Lisäksi eksosomi hajotti nopeammin rRNA:sta peräisin olevat transkriptit, joilla oli heteropolymeeriset hännät, kuin niiden ei-häntäiset variantit. Tietojemme perusteella ehdotamme, että arkeaalinen DnaG on RNA:ta sitova proteiini, joka eksosomin yhteydessä osallistuu stabiilin RNA:n kohdentamiseen hajotettavaksi.

**Tulos**

Arkeaalinen DnaG sisältää konservoidun N-terminaalisen RNA-sidontadomeenin ja mahdollistaa rRNA:n kiinnittämisen eksosomiin.

**Esimerkki 1.151**

Viime aikoina on tullut esiin ei-kanoniseen Gquadruplex-konformaatioon taittuneiden nukleiinihapporakenteiden fysiologinen ja farmakologinen merkitys. Niiden toiminta kohdistuu elintärkeisiin soluprosesseihin, kuten telomeerien ylläpitoon, transkription säätelyyn ja esivälittäjä- tai telomeerisen RNA:n prosessointiin. Lisäksi vakavat sairaudet, kuten syöpä, fragiili X -oireyhtymä, Bloomin oireyhtymä, Wernerin oireyhtymä ja Fanconin anemia J, liittyvät genomivirheisiin, joihin liittyy G-kvadrupleksin muodostavia sekvenssejä. Tässä yhteydessä G-kvadrupleksin tunnistaminen ja prosessointi nukleiinihappojen ohjaamien proteiinien ja entsyymien toimesta on keskeinen tapahtuma fysiologisten tai patologisten reittien aktivoimiseksi tai deaktivoimiseksi. Tässä katsauksessa tarkastelemme proteiini-G-kvadrupleksin tunnistamista fysiologisesti merkittävissä olosuhteissa ja keskustelemme siitä, miten vuorovaikutusten selektiivisyyttä voitaisiin mahdollisesti hyödyntää kohdennetuissa terapeuttisissa toimenpiteissä.

**Tulos**

Proteiini-G-kvadrupleksin tunnistamisen kehittyvä maailma: Lääkekemistin näkökulma

**Esimerkki 1.152**

Vastasyntyneiden nekrotisoiva enterokoliitti on yleisin vastasyntyneiden tehohoitoyksiköissä esiintyvä vakava ruoansulatuskanavan häiriö. Se on merkittävä vastasyntyneiden, erityisesti ennenaikaisesti syntyneiden, sairastuvuuden ja kuolleisuuden syy. Yhtenäisiä riskitekijöitä ovat syntymäpaino ja ennenaikaisuus. Myös verenkiertoa muuttava polysytemia ja hyperviskositeetti sekä infektiotekijät ovat osallisia. Kliinisiä löydöksiä ovat vatsan turvotus ja ripuli sekä systeemiset oireet, kuten apnea, asidoosi ja letargia. Pneumatosis intestinalis voidaan osoittaa röntgenologisesti. Limakalvon haavaumat, verenvuodot ja tromboosi ilmenevät varhain, minkä jälkeen seuraa tulehdusmuutoksia. Myöhemmin kehittyy vielä nekroosi. Iskemian, infektion ja enteraalisen ravinnon epäillään vaikuttavan patofysiologiaan. Eikosanoidit, erityisesti tromboksaani, verihiutaleita aktivoiva tekijä ja leukotrieenit ovat todennäköisiä välittäjiä.

**Tulos**

Vastasyntyneen nekrotisoiva enterokoliitti Vastasyntyneen tulehduksellinen suolistosairaus

**Esimerkki 1.153**

Paastoparadigmat saavat aikaan monenlaisia terveyshyötyjä, mukaan lukien tulehduksen hillitseminen. Niiden molekyylimekanismien tutkiminen, jotka estävät tulehdusta kalorimäärän rajoittamisen aikana, voi tuottaa lupaavia uusia terapeuttisia kohteita. Paaston aikana peroksisomaalisen proliferaattorin aktivoiman alfareseptorin (PPARA) ydinreseptorin aktivoituminen edistää lipidien hyödyntämistä energianlähteenä. Tässä tutkimuksessa osoitamme, että PPARA:n ligandin aktivaatio säätelee suoraan pitkää ei-koodaavaa RNA-geeniä Gm15441 sen promoottorissa olevien sitoutumiskohtien kautta. Gm15441:n ilmentyminen tukahduttaa sen antisense-transkriptiota, joka koodaa tioredoksiinin vuorovaikutusproteiinia (TXNIP). Tämä puolestaan vähentää TXNIP:n stimuloimaa NLRP3-inflammasomin aktivaatiota, kaspaasi-1:n (CASP1) pilkkoutumista ja proinflammatorisen interleukiini 1 beeta:n (IL1B) kypsymistä. Gm15441-null-hiiret kehitettiin ja osoitettiin olevan alttiimpia NLRP3-inflammasomin aktivaatiolle ja niillä oli kohonnut CASP1:n ja IL1B:n pilkkoutuminen vasteena metabolisiin ja tulehduksellisiin ärsykkeisiin. Nämä havainnot antavat näyttöä uudesta mekanismista, jolla PPARA heikentää maksan inflammasomin aktivoitumista vasteena metaboliseen stressiin lncRNA Gm15441:n induktion kautta. Txnip-ekspressio in vivo. Gm15441 LSL -hiiriä hoidettiin PPARA-agonistilla tai paastotettiin, jotta voitiin arvioida, miten Gm15441:n menetys vaikuttaa maksan inflammasomin aktivoitumiseen vasteena sekä farmakologiselle että fysiologisesti indusoituneelle metaboliselle stressille. TXNIP-proteiinin, kaspaasi-1:n (CASP1) tasot ja interleukiini 1 beeta (IL1B) -hajautuminen olivat koholla Gm15441 LSL -hiirissä, ja PPARA-aktivaatio lisäsi niitä edelleen, mikä osoittaa, että tällä lncRNA:lla on merkittävä rooli inflammasomin aktivaation heikentämisessä. Näin ollen maksan PPARA säätelee suoraan lncRNA Gm15441:tä, joka puolestaan tukahduttaa Txnip-ekspressiota, mikä heikentää NLRP3-inflammasomin aktivoitumista metabolisen stressin aikana. Nämä tutkimukset paljastivat uudenlaisen sääntelymekanismin, joka tukee paaston suotuisia vaikutuksia, nimittäin vähentynyttä tulehdusta. Tulokset PPARA:n suorittaman lncRNA:iden säätelyn arvioimiseksi RNA-seq suoritettiin käyttäen maksan kokonais-RNA:ta, joka oli eristetty Ppara +/+ -hiiristä sekä PPARA-agonisti WY-14643:n ruokavaliolle altistumisen yhteydessä että ilman sitä. Toteutettiin lncRNA:n löytöputki, jolla tunnistettiin 15 558 maksassa ilmentyvää lncRNA-geeniä. Näistä 13 343 oli intergeenisiä, 1 966 antisense- ja 249 intragenisiä lncRNA:ita. 44 % 15 558:sta maksassa ilmentyvästä lncRNA:sta katsotaan uudeksi (Melia ja Waxman, 2019). Differentiaalinen geeniekspressioanalyysi osoitti, että yhteensä 1735 RefSeq-geeniä ja 442 maksan ekspressoitua lncRNA-geeniä reagoi WY-14643-hoitoon ekspressiokertavaihtelulla >2 FDR<0,05:n mukaan. 968 RefSeq-geeniä ja 245 lncRNA-geeniä oli säännelty ylöspäin ja 767

**Tulos**

Pitkä ei-koodaava RNA Gm15441 heikentää maksan inflammasomin aktivoitumista vasteena metaboliseen stressiin.

**Esimerkki 1.154**

Hematologisia ja hyytymisprofiileja tutkittiin risteytyskoirilla, jotka olivat saaneet kokeellisen Angiostrongylus vasorum -tartunnan. Kahteen viiden koiran ryhmään istutettiin kokeellisesti 50 ja 100 A. vasorum -tartunnan kolmannen vaiheen toukkaa (L 3 ) ruumiinpainokiloa kohti. Kolmatta viiden tartunnattoman eläimen ryhmää käytettiin kontrollina. Kustakin eläimestä otettiin yksi 10 ml:n verinäyte 10, 20, 30 ja 45 päivää inokulaation jälkeen (dai) ja sen jälkeen 30 päivän välein koko 210 päivän koejakson ajan. Verinäytteestä otettiin täydellinen hemogrammi ja verihiutaleiden lukumäärä sekä mitattiin protrombiiniaika, osittainen tromboplastiiniaika ja tekijät V ja VIII. Anemiaa havaittiin tartunnan saaneilla koirilla 6 viikon kuluttua tartunnasta. Eosinofiilien määrässä esiintyi huippuja neljänä ajanjaksona tartunnan jälkeen. Trombosytopenia korostui 72 dai. Protrombiiniaika-aktiivisuuden vähenemistä ja osittaisen tromboplastiiniajan pitenemistä havaittiin 6 ja 9 viikon kuluttua tartunnasta, ja tekijöiden VIII ja V aktiivisuus väheni 4-6 viikon kuluttua tartunnasta. Voidaan päätellä, että A. vasorum -infektio koirilla voi aiheuttaa akuutin vaiheen aikana erillisen anemian, joka on todennäköisesti regeneratiivinen. Lisäksi infektiosta johtuvat merkittävät hemostaattiset muutokset viittaavat krooniseen intravaskulaariseen kulutuskoagulopatiaan.

**Tulos**

Angiostrongylus vasorum (Baillet, 1866) -tartunnan saaneiden koirien hematologiset ja hyytymisprofiilit koe-eläimillä

**Esimerkki 1.155**

Laitokset ovat edullisia bioreaktoreita erilaisten biolääkkeiden, kuten suun kautta annettavien rokotteiden, tuotantoon. Kasviperäiset oraaliset rokotteet ovat mahdollisesti hyödyllisiä torjuttaessa virusinfektioita, joihin liittyy limakalvojen immuniteetti. Siirtogeenisiä kasveja on tuotettu menestyksekkäästi tuottamaan limakalvorokotteita koleraa, B-hepatiittia, suu- ja sorkkatautia ja Norwalk-virusta vastaan. Ensimmäisenä askeleena kohti oraalisten rokotteiden tuottamista vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirusta (SARS-CoV) vastaan olemme ilmentäneet SARS-CoV:n rekombinantti S1-proteiinia muunnetussa tupakassa. Koska kasvien muuntaminen ja stabiilien transformanttien uudistaminen vaativat huomattavan paljon aikaa, käytimme aluksi vihreää fluoresoivaa proteiinia (GFP) antigeenin merkitsemiseen ohimenevässä ekspressiossa. GFP fuusioitiin S1:n karboksiterminaaliin S1-GFP:n ilmentämistä varten, jotta rekombinantti S1:n ilmentyminen voitaisiin osoittaa agroinfiltraatiolla tupakan lehdistä. GFP-tagin avulla antigeenin ilmentyminen kasvisoluissa voidaan varmistaa suhteellisen nopeasti fluoresenssimikroskopialla. Tällainen GFP:tä käyttävä analyysi, joka edeltää kasvien stabiilia transformaatiota, mahdollistaa useiden konstruktioiden nopean seulonnan optimaalisen rekombinanttiproteiinin ilmentymisen saavuttamiseksi. Lisäksi tällä lähestymistavalla määritetään rekombinanttiproteiinin subcellulaarinen lokalisaatio kasvisoluissa, mikä antaa tietoa optimaalisesta subcellulaarisesta kohdentamisesta tuotantoa varten kasvien bioreaktoreissa.

**Tulos**

GFP:n käyttö kasviperäisten rokotteiden ilmentymisen tutkimiseen

**Esimerkki 1.156**

Taustaa: BCoV:tä on havaittu sekä terveissä että ripuloivissa vasikoissa, mikä vaikeuttaa sen arviointia primaaripatogeeninä. Tavoitteet: Tavoitteena oli tutkia naudan koronaviruksen (BCoV) havaitsemisastetta terveiden ja ripuloivien vasikoiden ulosteissa ja kuvata pancoronaviruksen käänteisen transkriptaasin (RT) PCR-määrityksen (PanCoV-RT-PCR) käyttökelpoisuutta BCoV:n tunnistamiseksi ripuloivien vasikoiden näytteistä. Eläimet: Kaksisataakahdeksankymmentäkuusi <21 päivän ikäistä vasikkaa. Tapauksiksi katsottiin vasikat, joilla oli nestemäistä tai puolinestemäistä ulostetta, lämpötila > 39,5 °C ja ruokahaluttomuus, ja kontrolleiksi nimettiin vasikat, joilla oli tahmeaa tai kiinteää ulostetta ja normaali fyysinen tutkimus. Menetelmät: Prospektiivinen tapaus-verrokkitutkimus. BCoV:n havaitsemiseksi ulostenäytteistä käytettiin spesifistä BCoV-RT-PCR-määritystä. BCoV:n ja terveydentilan välistä yhteyttä arvioitiin tarkalla ja satunnaisvaikutuksellisella logistisella regressiolla. Ripuloivien vasikoiden uloste- (n = 28) ja nenänäytteet (n = 8) testattiin BCoV:n esiintymisen varalta sekä PanCoV-RT-PCR- että spesifisellä BCoV-RT-PCR-määrityksellä. Molempien määritysten yhdenmukaisuuden tason arvioimiseksi käytettiin Kappa-testiä. Tulokset: BCoV havaittiin 55 prosentissa (157/286) vasikoista, 46 prosentissa (66/143) terveistä vasikoista ja 64 prosentissa (91/143) ripulitaudista kärsivistä vasikoista. Ripuloivilla vasikoilla BCoV:n esiintymisen todennäköisyys oli suurempi kuin terveillä vasikoilla (OR: 2,16, 95 % CI: 1,26-3,83, P = 0,004). PanCoV-RT-PCR:n ja BCoV-RT-PCR:n välillä todettiin hyvä vastaavuus BCoV:n havaitsemiseksi (j = 0,68, 95 % CI: 0,392-0,967; P < 0,001). Päätelmät ja kliininen merkitys: BCoV havaittiin todennäköisemmin ripulitautisista kuin terveistä vasikoista. PanCoV-RT-PCR-määritys voi olla hyödyllinen väline CoV:n havaitsemiseksi ripuloivista vasikoista otetuista näytteistä.

**Tulos**

Nautaeläinten koronaviruksen toteaminen terveistä ja ripuloivista lypsyvasikoista.

**Esimerkki 1.157**

Tunnettujen ihmisen koronavirusten uskotaan saaneen alkunsa eläimistä ja käyttäneen väli-isäntiä siirtyäkseen ihmisiin. Useimpien ihmisen koronavirusten väli-isännät tunnetaan, mutta ei HCoV-NL63:n. Tässä tutkimuksessa pyritään arvioimaan joidenkin tärkeimpien kotieläinlajien mahdollista roolia HCoV-NL63:n väli-isäntinä. Kehitimme testausalgoritmin karjan seerumien suuritehoiseen seulontaan ELISA-testillä ja varmistukseen rekombinantti-immunofluoresenssimäärityksellä HCoV-NL63:n vasta-aineiden testaamiseksi karjassa. ELISA-testin optimointi osoitti, että määritys kykenee erottamaan HCoV-NL63:n merkittävästi HCoV-229E:stä (U = 27,50, p < 0,001) ja HCoV-OC43:sta (U = 55,50, p < 0,001) koronavirustyyppisissä seerumeissa. Määrityksen arviointi kerätyillä ihmisnäytteillä ei osoittanut merkittävää eroa immunofluoresenssiluokiteltujen HCoV-NL63-positiivisten ja HCoV-NL63-negatiivisten näytteiden keskimääräisissä optisen tiheyden arvoissa (F (1, 215) = 0,437, p = 0,509). Kaikki ELISA-testillä testatut 5 % (n = 8) reaktiivisimmista ihmisnäytteistä olivat HCoV-NL63-positiivisia immunofluoresenssitestauksessa. Vertailun vuoksi vain osa (84 %, n = 42) 25 prosentin suurimmasta joukosta oli positiivisia immunofluoresenssitestauksessa, mikä osoittaa, että erittäin ELISA-reaktiivisten näytteiden todennäköisyys olla positiivisia immunofluoresenssimäärityksessä on suurempi. Yksikään 5 prosentista ELISA-reaktiivisimmista karjanäytteistä ei ollut positiivinen HCoV-NL63-viruksiin liittyvien virusten suhteen immunofluoresenssivahvistuksessa. Ghanan kotieläimet eivät todennäköisesti ole HCoV-NL63:een liittyvien koronavirusten väli-isäntiä.

**Tulos**

Kokonaisen viruksen ELISA-testin kehittäminen kotieläinten serologista arviointia varten ihmisen koronaviruksen NL63 mahdollisina isäntinä.

**Esimerkki 1.158**

Sairaalainfektiot ovat merkittävä huolenaihe terveydenhuoltojärjestelmissä kaikkialla maailmassa. Niihin liittyy merkittävää sairastuvuutta ja kuolleisuutta sekä lisääntyneitä sairaalahoitokustannuksia. Viimeaikaiset taudinpurkaukset, kuten Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen ja Ebola-viruksen aiheuttamat taudinpurkaukset, ovat korostaneet infektioiden hallinnan merkitystä. Lisäksi HAI-sairauksista, erityisesti moniresistenttien gramnegatiivisten sauvojen aiheuttamista, on tullut maailmanlaajuisesti ensisijainen painopistealue. Vaikka asianmukaisia lähestymistapoja ja ohjeita on ollut olemassa jo useita vuosia ja ne ovat usein osoittautuneet tehokkaiksi joissakin maissa, tällaisten lähestymistapojen täytäntöönpano matalan ja keskitulotason maissa on usein rajoitettua rajallisten resurssien ja kehittymättömän infrastruktuurin vuoksi. Vaikka näyttöön perustuvat infektioiden ehkäisyn ja valvonnan (IPC) periaatteet ja käytännöt ovat yleismaailmallisia, tarvitaan tutkimuksia sellaisten yksinkertaistettujen lähestymistapojen arvioimiseksi, jotka voidaan mukauttaa paremmin LMIC-maiden tarpeisiin, jotta IPC:tä voidaan ohjata käytännössä. Ryhmä asiantuntijoita eri puolilta maailmaa osallistui maaliskuussa 2016 Hyderabadissa Intiassa järjestettyyn 17. kansainväliseen tartuntatautikongressiin järjestettyyn työpajaan, jossa keskusteltiin nykyisistä IPC-käytännöistä LMIC-maissa ja siitä, miten niitä voidaan parhaiten parantaa paikallisessa kontekstissa.

**Tulos**

Tartuntatautien 17. kansainvälisen kongressin seminaari infektioiden ehkäisy- ja valvontaresurssien kehittämisestä pieni- ja keskituloisille maille.

**Esimerkki 1.159**

Koska maailma on nykyään verkottunut, uudet taudinaiheuttajat ja pandemiaepidemiat ovat yhä suurempi uhka maailmanlaajuisen yhteisön terveydelle ja taloudelliselle vakaudelle. Tästä ovat osoituksena äskettäinen vuoden 2009 influenssa A (H1N1) -pandemia, SARS-epidemia sekä maailmanlaajuisen bioterrorismin alati läsnä oleva uhka. Onneksi biolääketieteellinen yhteisö on pystynyt tuottamaan nopeasti sekvenssitietoja, jotta nämä taudinaiheuttajat voidaan tunnistaa helposti. Toistaiseksi näiden sekvenssitietojen hyödyntäminen asianmukaisten kokeellisten tulosten tai käyttökelpoisten hoitojen tuottamiseksi nopeasti on kuitenkin viivästynyt saaduista sekvenssitiedoista huolimatta. Näin ollen patogeeninen uhka, joka on ilmaantunut ja/tai kehittynyt pandemiaksi, voidaan tunnistaa nopeasti, mutta tämän tunnistuksen muuntaminen nopeasti saatavilla olevaksi kohdennetuksi terapiaksi tai hoidoksi ei ole vielä toteutunut. Tässä kommentissa ehdotetaan, että kasvava DNA-synteesiteknologia olisi otettava täysimääräisesti käyttöön keinona tuottaa nopeasti in vivo -tietoja ja mahdollisesti käyttökelpoisia terapioita pian sen jälkeen, kun sekvenssitiedot ovat saatavilla.

**Tulos**

Pääsy

**Esimerkki 1.160**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymä (MERS) on erittäin tappava hengitystiesairaus, jonka aiheuttaa uusi yksisäikeinen, positiivisen senssin omaava RNA-beta-koronavirus (MERS-CoV). MERS-CoV:n isäntänä toimivien dromedaarikameleiden on epäilty tarttuvan suoraan tai epäsuorasti ihmisiin, vaikka tarkkaa tartuntatapaa ei tunneta. Virus eristettiin ensimmäisen kerran potilaasta, joka kuoli vakavaan hengitystiesairauteen kesäkuussa 2012 Jeddassa, Saudi-Arabiassa. Toukokuun 31. päivään 2015 mennessä WHO:lle oli ilmoitettu 1180 laboratoriossa todettua tapausta (483 kuolemantapausta; 40 prosentin kuolleisuus). Tapauksia on raportoitu sekä yhteisössä että sairaalassa, ja ihmisestä ihmiseen siirtymistä on raportoitu yhteisössä vain vähän. Vaikka suurin osa MERS-tapauksista on esiintynyt Saudi-Arabiassa ja Yhdistyneissä arabiemiirikunnissa, tapauksia on raportoitu myös Euroopassa, Yhdysvalloissa ja Aasiassa Lähi-idästä tulleilla ihmisillä tai heidän kontakteillaan. MERS-taudin kliiniset piirteet vaihtelevat oireettomasta tai lievästä taudista akuuttiin hengitysvaikeusoireyhtymään ja kuolemaan johtavaan monielinvaurioon, erityisesti henkilöillä, joilla on perussairauksia. MERS-tautiin ei ole olemassa erityistä lääkehoitoa, ja infektioiden ehkäisy- ja torjuntatoimenpiteet ovat ratkaisevan tärkeitä, jotta voidaan estää tartunnan leviäminen terveydenhuollon laitoksissa. MERS-CoV on edelleen endeeminen, matalan tason kansanterveysuhka. Virus voi kuitenkin muuntua niin, että sen tarttuvuus ihmisten välillä lisääntyy, mikä lisää sen pandemian mahdollisuutta.

**Tulos**

Seminaari Lähi-idän hengitystieoireyhtymä

**Esimerkki 1.161**

Alanyyliaminopeptidaasi (APN) on pintaan sitoutunut metallopeptidaasi, joka käsittelee biologisesti aktiivisten peptidien, kuten enkefaliinien, angiotensiinien, neurokiniinien ja sytokiinien, N-päätteitä. Se vaikuttaa voimakkaasti elintärkeisiin prosesseihin, kuten immuunivasteeseen, solujen kasvuun ja verenpaineen säätelyyn. Joko APN:n geeniekspression tai sen entsymaattisen aktiivisuuden estäminen vaikuttaa vakavasti leukosyyttien kasvuun ja toimintaan. Osoitamme tässä, että oksidoreduktiovälitteiset solupinnan tiolitilan muutokset vaikuttavat APN:n entsymaattiseen aktiivisuuteen. Lisänäyttöä solunulkoisten kysteiinien keskeisestä roolista APN-molekyylissä saatiin, kun minkä tahansa näistä kuudesta kysteiinistä korvaaminen aiheutti pinnan ilmentymisen ja entsyymiaktiivisuuden täydellisen häviämisen. Sitä vastoin transmembraanisella Cys24:llä ei näytä olevan vastaavaa tehtävää. Entsymaattisesti inaktiiviset kysteiinimutantit säilyivät endoplasmisessa retikulumissa, kuten osoitettiin korkean resoluution kuvantamisella ja Endoglykosidaasi H:n sulatuksella. Koska kiderakennetietoja ei ole, sen osoittaminen, että yksittäiset solunulkoiset kysteiinit vaikuttavat APN:n ilmentymiseen ja toimintaan, vaikuttaa erityisen tärkeältä. Nämä tiedot ovat ensimmäiset, joissa osoitetaan tyypillisen pintaan sitoutuneen peptidaasin aktiivisuuden tiolista riippuvainen modulaatio solun pinnalla, mikä todennäköisesti heijastaa yleistä säätömekanismia. Tämä voi liittyä erilaisiin tautiprosesseihin, kuten tulehdukseen tai pahanlaatuiseen transformaatioon.

**Tulos**

SOLUNULKOISET KYSTEIINIT MÄÄRITTELEVÄT EKTOPEPTIDAASIN (APN, CD13) ILMENTYMISTÄ JA TOIMINTAA.

**Esimerkki 1.162**

RNA-guanyyltransferaasi (GTaasi) osallistuu eukaryoottisten mRNA:iden 59-päässä olevan m7 Gppp-RNA-korkkirakenteen synteesiin. GTaasit kuuluvat kovalenttisten nukleotidyylitransferaasien superperheeseen, johon kuuluvat myös DNA- ja RNA-ligaasit. GTaasit katalysoivat kaksivaiheisen reaktion, jossa ne käyttävät aluksi GTP:tä substraattina muodostaakseen kovalenttisen entsyymi-GMP-välituotteen. Tämän jälkeen GMP-osuus siirretään reaktion toisessa vaiheessa RNA-transkriptin difosfaattipäähän, jolloin muodostuu Gppp-RNA-rakenne. Tässä tutkimuksessa käytimme virtuaalisen tietokantaseulonnan, homologisen mallintamisen ja biokemiallisten testien yhdistelmää etsiessämme uusia GTaasi-inhibiittoreita. Tämän lähestymistavan avulla osoitimme, että mykofenolihappo (MPA) voi estää GTaasireaktiota estämällä GMP-osan katalyyttisen siirtymisen akseptori-RNA:han. Näin ollen MPA edustaa uudentyyppistä RNA-guanyylyltransferaasien estäjää, joka estää katalyyttisen reaktion toisen vaiheen. Lisäksi osoitamme, että MPA:n lisääminen S. cerevisiae -soluihin johtaa korkattujen mRNA:iden vähenemiseen. Lopuksi biokemialliset määritykset osoittavat myös, että MPA voi inhiboida DNA-ligaaseja estämällä reaktion toisen vaiheen. Näiden löydösten biologisia vaikutuksia MPA:n välittämään kovalenttisen nukleotidyylisuperperheen jäsenten estämiseen käsitellään. Viittaus: Tremblay-Létourneau M, Despins S, Bougie I, Bisaillon M (2011) Virtual High-Throughput Screening Identifies Mycophenolic Acid as a Novel RNA Capping Inhibitor. PLoS ONE 6(9): e24806.

**Tulos**

Virtuaalinen korkean läpimenon seulonta tunnistaa mykofenolihapon uutena RNA-kapseloinnin estäjänä.

**Esimerkki 1.163**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus MERS Terveydenhuoltoon liittyvät taudinpurkaukset S U M M A R Y Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirus (MERS-CoV) voi aiheuttaa akuutin hengitystiesairauden. Laboratoriossa vahvistetut MERS-CoV-tapaukset voivat olla oireettomia, sairastua lievästi tai sairastua hengenvaaralliseen infektioon, johon liittyy korkea kuolleisuusaste. Tartuntatapoja on kolme: sporadiset tapaukset yhteisössä, jotka johtuvat oletetusta altistumisesta muille kuin ihmisille, perheryhmät, jotka johtuvat kosketuksesta tartunnan saaneeseen perheen indeksitapaukseen, ja terveydenhuollossa saadut infektiot potilaiden keskuudessa ja potilaista terveydenhuollon työntekijöihin. Terveydenhuollossa saadusta MERS-infektiosta on tullut taudin tunnettu piirre ja johtava leviämistapa. Tärkeimpiä tekijöitä, jotka edistävät terveydenhuollosta aiheutuvia tautipesäkkeitä, ovat viivästynyt tunnistaminen, riittämättömät infektioiden torjuntatoimenpiteet, epäiltyjen MERS- tai muiden hengityselinsairauspotilaiden riittämätön luokittelu ja eristäminen, tungos ja potilaiden viipyminen päivystysosastolla useita päiviä. Kirjallisuuskatsauksen perusteella voidaan todeta, että sairaalatautiepidemioiden tehokas torjunta onnistui useimmissa tapauksissa soveltamalla asianmukaisia infektioiden torjuntamenettelyjä. Epäiltyjen tapausten nopea tunnistaminen, eristäminen ja hoito ovat avaintekijöitä MERS-taudin leviämisen ehkäisemisessä. Toistuvat infektioiden hallinnan arvioinnit ja korjaavien toimenpiteiden seuranta auttavat muuttamaan taudinpurkauksen kulkua. Yhteydenottojen ja sairaalakäyntien määrän rajoittaminen ovat myös tärkeitä tekijöitä tartunnan leviämisen vähentämiseksi.

**Tulos**

Terveydenhuoltoon liittyvät infektiot: Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen tunnusmerkki ja kirjallisuuskatsaus.

**Esimerkki 1.164**

Ihmisen koronavirukset ovat yksi tärkeimmistä ihmisten ylähengitystieinfektioiden aiheuttajista. Vaikka ne aiheuttavat useammin lieviä sairauksia, ne on yhdistetty sairaalahoitoa vaativiin sairauksiin. Tässä tutkimuksessa kehitettiin yhden ihmisen koronaviruksen, OC43:n, määritys, jossa käytettiin typistettyä rekombinantti-nukleokapsidi (N)-proteiiniantigeenia entsyymi-immunosorbenttimäärityksessä (ELISA), ja sitä arvioitiin seerumilla, joka kerättiin HCoV-OC43-tartunnan saaneilta potilailta, terveiltä aikuisilta ja potilailta, joilla oli muita hengitystievirusinfektioita. Tulokset osoittivat, että määrityksen diagnostinen herkkyys oli 90,9 % (10/11) ja spesifisyys 82,9 % (39/47). ELISA-testin kliinisen hyödyllisyyden arvioimiseksi seulottiin seeruminäytteet, jotka oli kerätty HCoV-OC43-infektion puhkeamisen aikana potilailta ja jotka oli aiemmin tunnistettu positiivisiksi HCoV-OC43:n koko-N-ELISA-testillä, ja tulokseksi saatiin 100 %:n yksimielisyys diagnoosin tekemisestä testausmenetelmien välillä. Nämä tulokset viittaavat siihen, että tämä määritys tarjoaa luotettavan menetelmän HCoV-OC43-infektion havaitsemiseen ja voi olla hyödyllinen väline koronavirusten seroepidemiologisissa tutkimuksissa. Published by Elsevier B.V. 0166-0934/$ -see front matter Published by Elsevier B.V.

**Tulos**

Rekombinanttipohjaisen, typistettyyn nukleokapsidiproteiiniin perustuvan immunomäärityksen kehittäminen ihmisen koronaviruksen OC43 ଝ vasta-aineiden osoittamiseksi.

**Esimerkki 1.165**

Tavoite: Arvioida tieteellinen perusta Kang 601 hejin (K-601) käytölle tulehdusta ja kuumetta lievittävänä aineena käyttäen sopivia eläinmalleja. Menetelmät: K-601:n anti-inflammatoristen vaikutusten tutkimiseen käytettiin karrageenin aiheuttamia rotan käpälän ja ksyleenin aiheuttamia korvatulehduksia. Lipopolysakkaridin aiheuttamaa pyreksiaa käytettiin Wistar-rottien antipyreettisen vaikutuksen arvioimiseksi. Anti-inflammatorisia ja antipyreettisiä mekanismeja arvioitiin määrittämällä prostaglandiini E 2 -, typpioksidi-, interleukiini-1b- ja tuumorinekroositekijä-a-pitoisuudet käyttämällä sopivia reagensseja ja ELISA-pakkauksia. Tulokset: Tulokset osoittivat, että K-601 vähensi tulehduksia molemmissa anti-inflammatorisissa malleissa annosriippuvaisesti. Sama päti antipyreettiseen malliin. Mahdolliset vaikutusmekanismit olivat prostaglandiini E 2 :n, interleukiini-1b:n, tuumorinekroositekijä-a:n ja typpioksidin estäminen. Päätelmät: K-601:llä on todistetusti anti-inflammatorisia ja antipyreettisiä vaikutuksia. Tulokset tarjoavat tieteellisen perustan K-601:n käytölle tulehdusta ja kuumetta lievittävänä aineena perinteisessä kiinalaisessa lääkintäkäytännössä.

**Tulos**

Kang 601 hejin, perinteisen kiinalaisen suun kautta annosteltavan nestemäisen lääkemuodon, tulehdusta ja kuumetta ehkäisevät ominaisuudet.

**Esimerkki 1.166**

Virusperäiset pahenemisvaiheet ovat edelleen suurin astmaan liittyvä taakka sairastuvuuden, kuolleisuuden ja terveydenhuoltokustannusten kannalta. Suurimmassa vaarassa sairastua akuuttiin astmaan ovat ne, joilla on vaikeampi hengitystiesairaus ja huono astman hallinta. Virusinfektioiden aiheuttamat akuutit pahenemisvaiheet ovat edelleen vakava syy lisääntyneeseen sairastavuuteen juuri tässä ryhmässä, jolla on vakiintunut astma. Astman hoitoon on kehitteillä useita uusia hoitomuotoja, jotka kohdistuvat erityisesti tähän ryhmään, jonka taudinhallinta on huono. Useimmissa tapauksissa niiden tehoa arvioidaan nyt sen perusteella, miten hyvin ne pystyvät vähentämään akuuttien pahenemisvaiheiden esiintyvyyttä. Uusien hoitokeinojen kehittämisen kannalta on ratkaisevan tärkeää ymmärtää paremmin viruksen ja isännän välistä vuorovaikutusta astmaattisten hengitysteiden yhteydessä. Tämä edellyttää taudin virologian tutkimista fysiologisissa malleissa yhdessä astmapotilaiden yksityiskohtaisen fenotyyppisen kuvauksen kanssa, jotta voidaan tunnistaa kohteet, joihin voidaan kohdistaa terapeuttisia toimenpiteitä. ARTIKKELIN HISTORIA

**Tulos**

Virusten aiheuttaman astman hoidon edistyminen

**Esimerkki 1.167**

Taustat: Diamond Princess -risteilyaluksella on 16. helmikuuta 2020 mennessä vahvistettu 355 COVID-19-tartuntatapausta. On ratkaisevan tärkeää arvioida uuden viruksen lisääntymisluku (R0) taudinpurkauksen alkuvaiheessa ja ennustaa päivittäiset uudet tapaukset aluksella. Menetelmä: Sovitimme raportoidun sarjavälin (keskiarvo ja keskihajonta) gammajakaumalla ja sovelsimme R-ohjelman "earlyR"-pakettia arvioidaksemme R0:n COVID-19-epidemian alkuvaiheessa. Sovelsimme R:n "projections"-pakettia simuloidaksemme uskottavia kumulatiivisia epidemiaratoja ja tulevia päivittäisiä ilmaantuvuuksia sovittamalla nykyisiä päivittäisiä ilmaantuvuuksia koskevat tiedot, sarjavälin jakauman ja arvioidun R0:n malliin, joka perustuu olettamukseen, että päivittäiset ilmaantuvuudet noudattavat suunnilleen Poisson-jakaumaa, joka määräytyy päivittäisen tarttuvuuden mukaan. Tulokset: R0:n suurimman todennäköisyyden (ML) arvo oli 2,28 COVID-19-taudin puhkeamisen alkuvaiheessa aluksella. R0-arvojen mediaani ja 95 prosentin luottamusväli (CI) oli 2,28 (2,06-2,52), joka arvioitiin bootstrap-resampling-menetelmällä. Uusien tapausten todennäköinen määrä seuraavien kymmenen päivän aikana kasvaisi vähitellen, ja arvioitu kumulatiivinen tapausten määrä olisi 1514 (1384-1656) kymmenentenä päivänä tulevaisuudessa. Jos R0-arvoa kuitenkin pienennettäisiin 25 prosenttia ja 50 prosenttia, kumulatiivisten tapausten arvioitu kokonaismäärä pienenisi vastaavasti 1081 (981-1177) ja 758 (697-817) tapaukseen. Päätelmät: COVID-19:n R0-arvon mediaani 95 prosentin CI:n kanssa oli noin 2,28 (2,06-2,52) Diamond Princess -risteilyaluksella koetun alkuvaiheen aikana. Tuleva päivittäinen ilmaantuvuus ja todennäköinen taudinpurkauksen koko riippuvat suurelta osin R0:n muutoksesta. Ellei tartuntojen hallintaa ja valvontaa toteuteta tiukasti, havaintomme osoittavat, että COVID-19 voi aiheuttaa suuremman taudinpurkauksen aluksella.

**Tulos**

Arvio uuden koronaviruksen (COVID-19) lisääntymismäärästä ja taudinpurkauksen todennäköisestä koosta Diamond Princess -risteilyaluksella: Tietoihin perustuva analyysi

**Esimerkki 1.168**

Naudan koronavirus (BCoV) on viruksen aiheuttama suolistopatogeeni, joka liittyy maailmanlaajuisesti vasikoiden ripuliin ja jota Argentiinassa havaitaan eniten maidontuotantojärjestelmissä. Tämän työn tavoitteena oli tutkia, muokkaavatko ternimaidon saannin kautta saadut äidin IgG1-vasta-aineet BCoV:tä vastaan BCoV-infektion kehittymistä vasikoilla, joita kasvatetaan argentiinalaisella maitotilalla. Kolmekymmentä holstein-vasikkaa seurattiin niiden 60 ensimmäisen päivän iän aikana. Eläimet luokiteltiin kahteen ryhmään BCoV IgG1 Ab:n alkuperäisen titterin mukaan. Passiivisen siirron epäonnistumisen" (FPT) ryhmässä oli huomattavasti alhaisemmat IgG1 Ab:t BCoV:lle kuin "hyväksyttävän passiivisen siirron" (APT) vasikkaryhmässä (log10 1,98 vs. 3,38) (p < 0,0001). Nämä erot havaittiin myös, kun molempien ryhmien kokonaisproteiinipitoisuuksia verrattiin (p = 0,0081). Lisäksi 71 prosentilla (5/7) FPT-ryhmän vasikoista todettiin IgG1-serokonversio BCoV:lle verrattuna 29,4 prosenttiin (5/17) APT-ryhmän eläimistä. Viruskierron osalta BCoV havaittiin 10 prosentissa (3/30) kaikista vasikoista ja BCoV IgG1 Ab -serokonversio havaittiin 42 prosentissa kaikista eläimistä, mikä osoittaa, että lähes puolet vasikoista oli saanut BCoV-tartunnan. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että vasikat, joilla oli korkea BCoV:n IgG1-ab-tiitteri (≥1024), olivat enimmäkseen suojattuja virustartunnalta, kun taas eläimet, joilla oli matala IgG1-ab-tiitteri (<1024), olivat enimmäkseen saaneet BCoV-tartunnan. Ternimaitoperäiset IgG1 Abs:t ovat kriittisiä BCoV-infektion ehkäisyssä. BY-NC-ND-lisenssi (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/). mostró. Con respecto a la circulación viral, se detectedó BCoV en el 10 % (3/30) de los terneros así como también seroconversión de IgG1 en el 42 % del total de los animales, lo que evidencia que aproximadamente la mitad de los terneros se infectaron con BCoV. Este estudio mostró que los terneros con altos títulos de IgG1 específica (≥ 1,024) estuvieron mayormente protegidos contra la infektio con BCoV, mientras que los animales con títulos bajos de IgG1 (< 1,024) estuvieron predispuestos a la infektio. Esto confirma que los anticuerpos IgG1 calostrales son críticos para la prevención de la infección por este agente viral.

**Tulos**

M I C R O B I O L O G Í A Passiivinen immuniteetti naudan koronaviruksen aiheuttaman ripulin hallitsemiseksi lypsykarjassa Argentiinassa PALABRAS CLAVE bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by- nc-nd/4.0/)

**Esimerkki 1.169**

3C-kaltaisella proteaasilla (3CL pro ) on keskeinen rooli vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) elinkaaressa, ja ainoastaan dimeeristä proteaasia on ehdotettu toiminnalliseksi muodoksi. Kiderakenteen ja molekyylidynamiikkasimulaatioiden perusteella suoritimme tässä tutkimuksessa systemaattisia mutaatioanalyysejä 3CL pro:n dimerisaation ja aktiivisuuden kannalta kriittisten jäännösten tunnistamiseksi. Seitsemän jäännöstä dimerin rajapinnassa valittiin arvioimaan niiden osuutta dimerin stabiilisuuteen ja katalyyttiseen aktiivisuuteen biofysikaalisilla ja biokemiallisilla menetelmillä. Nämä jäännökset osallistuvat dimerisaatioon vetysidoksen kautta ja sijaitsevat laajalti N-terminaalisessa sormessa, domainin I a-kierteessä A 0 ja domainin II oksyanionisilmukassa lähellä substraattia sitovaa S1-alapaikkaa. Osoitimme, että kaikki seitsemän yksittäistä mutaatiota proteaasia muodostavat edelleen dimeerisiä lajeja, mutta näiden mutanttien monomeeri-dimeeri-tasapainot poikkeavat toisistaan, mikä viittaa siihen, että nämä jäännökset saattavat vaikuttaa eri tavoin dimeerin vakauteen. Tällainen johtopäätös voidaan edelleen todentaa tuloksilla, joiden mukaan myös näiden mutanttien proteolyyttiset aktiivisuudet vähenevät eriasteisesti. Tämä tutkimus auttaisi meitä ymmärtämään paremmin SARS-CoV 3CL pro:n dimerisaatio-aktiivisuus-suhdetta ja antaisi potentiaalista tietoa sellaisten viruksenvastaisten yhdisteiden suunnitteluun, jotka kohdistuvat proteaasin dimerrajapintaan.

**Tulos**

SARS-koronaviruksen 3C-kaltaisen proteaasin dimeeriliitännän jäännökset: Dimeerin stabiilisuuden karakterisointi ja entsyymin katalyyttisen aktiivisuuden analyysi.

**Esimerkki 1.170**

Taustaa: Vastasyntyneiden pienipainoisten vastasyntyneiden sairastavuus- ja kuolleisuusluvut ovat korkeammat kuin normaalipainoisten vastasyntyneiden. Pienipainoisilla vastasyntyneillä on suurempi riski saada toistuvia bakteeri- ja virusinfektioita ensimmäisten elinviikkojensa aikana, mikä saattaa johtua heikentyneistä synnynnäisistä immuunitoiminnoista. Koska adaptiivinen immuniteetti on naiivissa tilassa, pienipainoisten vastasyntyneiden lisääntynyt infektioriski verrattuna pienipainoisiin vastasyntyneisiin saattaa heijastaa synnynnäisen immuniteetin heikkenemistä. Menetelmät: Käytimme mikroarray-tekniikkaa, jonka avulla tunnistimme eroja LBW- ja NBW- vastasyntyneiden (n = 8) geeniekspressiossa verrattuna NBW- vastasyntyneisiin (n = 4), kun käytimme napanuoraverta. Mikrosirututkimuksesta saadut tulokset validoitiin suuremmalla määrällä näytteitä käyttämällä reaaliaikaista RT-PCR:ää (LBW = 22, NBW = 18) ja western blottingia (LBW = 12, NBW = 12). Interferome-tietokannan avulla tunnistettiin interferonin (IFN) merkkigeenit, ja ingenuity-polkuanalyysillä tunnistettiin kanoniset polut ja biologiset toiminnot, jotka liittyivät LBW:n vastasyntyneiden eri tavoin ilmentyneisiin geeneihin. Sekä LBW- ja NBW- vastasyntyneille että aikuisille (LBW = 18, NBW = 18, aikuiset = 8) tehtiin ELISA-testit IFN:lle ja bakteereja tappavalle/läpäisevyyttä lisäävälle proteiinille. Tärkeimmät tulokset: Niistä 1 065 geeniä oli alaspäin säänneltyjä ja 326 geeniä ylöspäin säänneltyjä LBW- ja NBW- vastasyntyneillä. Huomionarvoista on, että 70 IFN-signatuurigeenin havaittiin olevan merkittävästi alasreguloituneita LBW:llä verrattuna NBW:n vastasyntyneisiin. Ingenuity-polkuanalyysi osoitti, että mallintunnistusreseptorien signalointi, mukaan lukien Toll-Like Reseptorit (TLR) -1, -5 ja -8 -geenit, ja IFN-signalointi olivat polkuja, joihin vaikutti eniten. Hengitystieinfektiosairaudet olivat LBW-syntyneiden biotoiminnot, joihin vaikutti eniten. Päätelmät ja merkitys: Vähentynyt PRR-, IFN-merkki- ja BPI-geenien ilmentyminen herättää mahdollisuuden, että näiden reittien heikentyminen vaikuttaa osaltaan LBW-terminaalivuodeikäisten infektioherkkyyteen.

**Tulos**

Vähentynyt kuvantunnistusreseptorin signalointi, interferoni-merkki ja bakterisidinen/läpäisevyys - proteiinien lisääntyvä geeniekspressio napanuoraveren terminaalin matalassa syntymäpainossa syntyneiden ihmisten vastasyntyneiden kohdalla.

**Esimerkki 1.171**

Coronavirus tauti-2019 (COVID-19) on SARS-CoV-2:n aiheuttama nopeasti leviävä epidemia. Yksinkertaisen ja tehokkaan indikaattorin määrittäminen taudin vakavuuden ja ennusteen arvioimiseksi on kiireellisesti tarpeen. Veren lymfosyyttiprosentin (LYM%) dynaamiset muutokset 15 kuolemantapauksessa, 15 vakavassa tapauksessa sekä 40 keskivaikeassa tapauksessa COVID-19-potilailla analysoitiin takautuvasti. Aika-LYM%-malli (TLM) laadittiin kuvailevien tutkimusten perusteella, ja se validoitiin 92 sairaalahoitotapauksessa. Kuolemantapausten ja vakavien tapausten tulokset osoittivat, että verikokeiden LYM% oli käänteisesti yhteydessä COVID-19:n vakavuuteen ja ennusteeseen. Keskivaikeaa COVID-19:tä sairastavien potilaiden LYM-% pysyi yli 20 %:ssa 10-12 päivää oireiden alkamisen jälkeen. Sitä vastoin vaikeissa tapauksissa LYM-% oli alle 20 %. Vaikeissa tapauksissa LYM-% oli kuitenkin yli 5 % 17-19 päivää taudin puhkeamisen jälkeen, kun taas kuolemantapauksissa se laski alle 5 %:n. Näin ollen laadimme Time-LYM%-mallin (TLM), joka validoitiin riippumattomaksi taudin luokittelukriteeriksi 92:lla muulla sairaalahoitopotilaalla, joilla oli COVID-19. Lymfopeniaa voidaan käyttää COVID-19-potilaiden taudin vakavuuden ja ennusteen indikaattorina. TLM:ää kannattaa soveltaa kliinisessä käytännössä.

**Tulos**

Lymfopenia ennustaa COVID-19:n taudin vakavuutta: kuvaileva ja ennustava tutkimus Yhteenveto Taustaa

**Esimerkki 1.172**

2H-fosfoesteraasit katalysoivat reaktioita nukleotidisubstraateilla, ja niiden aktiivisessa keskuksessa on kaksi konservoitunutta histidiinijäämää. Näiden entsyymien katalyyttisen syklin aikana tapahtuvasta aktiivisen alueen ja substraatin/tuotteen sitoutumisen yksityiskohdista on tällä hetkellä saatavilla hyvin vähän tietoa. Teimme kattavan röntgenkristallografisen tutkimuksen hiiren 2′,3′-syklisen nukleotidin 3′-fosfodiesteraasista (CNPaasi), joka on kalvoassosioitunut entsyymi, jota esiintyy runsaasti tetrapodien myeliinitupessa. Määritimme kiderakenteet CNPaasin fosfodiesteraasidomeenille, joka on kompleksissa substraatin, tuotteen ja fosforitiolaattianalogien kanssa. Tiedot antavat yksityiskohtaista tietoa CNPaasin reaktiomekanismista, mukaan lukien substraatin sitoutumistapa ja nukleofiilisen vesimolekyylin koordinointi. Reaktioon liittyy β5-α7-silmukan avautumis- ja sulkeutumisliike. Kierteen α7 N-päätteen - joka on ainutlaatuinen 2H-perheen CNPaasille - rooli reaktion aikana osoittaa, että 2H-fosforiesteraasit eroavat toisistaan reaktiomekanismeiltaan huolimatta konservoiduista katalyyttisistä jäännöksistä. Lisäksi esitämme pienikulmaisen röntgensäteiden sironnan perusteella mallin koko entsyymille, joka osoittaa, että CNPaasin kaksi domeenia muodostavat pitkänomaisen molekyylin. Lopuksi keskustelemme rakennetietojemme ja kattavan bioinformatiikkatutkimuksen perusteella CNPaasin säilymisestä eri organismeissa.

**Tulos**

2′,3′-syklisen nukleotidi-3′-fosfodiesteraasin, joka on ainutlaatuinen 2H-fosfoesteraasiperheen jäsen, reaktiosyklin kiteellinen analyysi

**Esimerkki 1.173**

Saffold-virusta (SAFV), pikornavirusta, havaitaan satunnaisesti lapsilla, joilla on akuutti veltto halvaus, aivokalvontulehdus ja pikkuaivotulehdus; SAFV:n neuropatogeenisuutta ei kuitenkaan ole vielä selvitetty. Kahden kliinisen SAFV-tyypin 3 (SAFV-3) isolaatin virulenssia, jotka on saatu aseptista aivokalvontulehdusta (AM-kanta) ja akuuttia ylähengitystietulehdusta (UR-kanta) sairastavasta potilaasta, analysoitiin vastasyntyneillä ja nuorilla hiirillä käyttäen virologisia, patologisia ja immunologisia menetelmiä. Kantojen polyproteiinit erosivat toisistaan kahdeksan aminohapon osalta. Molemmat kliiniset isolaatit olivat infektiivisiä, neurotrooppisia ja lievästi neurovirulentteja vastasyntyneissä ddY-hiirissä. Molemmat kannat tartuttivat patologisesti hermojen esisoluja ja gliasoluja, mutta eivät suuria hermosoluja, ja UR-kanta tartutti myös epiteelisoluja. UR-infektio johti demyelinaation vuoksi pidempään tulehdukseen aivoissa ja selkäytimessä, kun taas AM-kannalla oli enemmän infektiivisyyttä pikkuaivoissa vastasyntyneillä ddY-hiirillä. Lisäksi nuoret BALB/c-hiiret serokonvertoituivat UR-kannan mutta ei AM-kannan limakalvoinjektion jälkeen. Molemmat SAFV-3-isolaatit olivat neurotrooppisia ja lievästi neurovirulenttisia, mutta niiden solutrooppisuus oli erilainen sekä vastasyntyneiden että nuorten hiirten malleissa. Tällä eläinmallilla on mahdollista toistaa SAFV-3:n mahdollinen neuropatogeenisuus.

**Tulos**

Kahden Saffoldi-viruksen tyyppi 3 -isolaatin neuropatogeenisuus hiirimalleissa.

**Esimerkki 1.174**

Tarkoitus: Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää vakavasti sairaiden potilaiden, joilla on vahvistettu vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS), tyypilliset kliiniset piirteet ja tulokset. Aineisto ja menetelmät: Tähän retrospektiiviseen tutkimukseen osallistuivat kaikki potilaat, jotka otettiin 12-paikkaiseen SARS-intensiiviyksikköön (teho-osasto) Taipeissa sijaitsevassa tertiäärilääketieteen keskuksessa 15. toukokuuta ja 17. heinäkuuta 2003 välisenä aikana. SARS-tapauksiksi määriteltiin potilaat, joilla oli positiivinen tulos joko käänteisestä transkriptaasipolymeraasiketjureaktiosta tai SARS-koronaviruksen vasta-aineesta, ja muut potilaat, joilla oli negatiivinen tulos, olivat kontrollitapauksia. Tulokset: 50 potilaasta 14:llä oli vahvistettu SARS. Demografiset tiedot olivat samankaltaiset kahden ryhmän välillä. Korkeimmat leukosyytti- ja neutrofiilimäärät, laktaattidehydrogenaasi ja kreatiinikinaasi, positiivinen hengityspaine sekä kortikosteroidien, ribaviriinin ja suonensisäisen immunoglobuliinin käyttö olivat korkeampia SARS-ryhmässä. Sitä vastoin alhaisin lymfosyyttimäärä ja PaO 2:n suhde sisäänhengitetyn hapen osuuteen olivat alhaisemmat SARS-ryhmässä. Kontrolliryhmän 15 kuolemantapauksesta 12 (80 %) tapahtui kahden ensimmäisen viikon aikana teho-osastolle pääsystä. Sen sijaan vahvistetussa SARS-ryhmässä viisi (55,6 %) yhdeksästä kuolemantapauksesta tapahtui kolmannen tai neljännen viikon aikana. Tämä ero ajoituksessa näiden kahden ryhmän välillä oli merkittävä (P = 0,004). Päätelmät: SARSin teho-osastolla potilailla, joilla oli vahvistettu SARS-diagnoosi, oli merkittävästi erilaiset kliiniset piirteet ja kuolleisuuden ajoitus kuin vertailuryhmässä.

**Tulos**

Vaikean akuutin hengitysoireyhtymän ominaispiirteet ja tulokset vaikean akuutin hengitysoireyhtymän tehohoitoyksikön potilailla.

**Esimerkki 1.175**

Partetravirus on äskettäin kuvattu eläinten parvovirusten ryhmä, johon kuuluvat ihmisen partetravirus, naudan partetravirus ja sian partetravirus (aiemmin tunnettu nimillä ihmisen parvovirus 4, naudan hokovirus ja sian hokovirus). Tässä raportissa kuvaamme partetravirusten löytämistä ja genomista karakterisointia naudan- ja lampaanlihanäytteistä Kiinasta. Nämä partetravirukset havaittiin PCR:llä 1,8 prosentissa naudan maksanäytteistä, 66,7 prosentissa lampaan maksanäytteistä ja 71,4 prosentissa lampaan pernanäytteistä. Yksi näissä näytteissä havaituista naudan partetaviruksista eroaa fylogeneettisesti aiemmin raportoiduista naudan partetaviruksista ja edustaa todennäköisesti uutta genotyyppiä. Lampaan partetravirus on uusi partetravirus, ja se on fylogeneettisesti eniten sukua naudan partetraviruksille. Näiden virusten genomiorganisaatio on konservoitunut, mukaan luettuna oletettu transmembraaniproteiini, jota koodaa päällekkäinen lukukehys ORF2:ssa. Tämän tutkimuksen tulokset tukevat entisestään partetravirusten luokittelua erilliseksi suvuksi Parvovirinae-suvussa.

**Tulos**

Uuden lampaan partetaviruksen ja naudan partetaviruksen uuden genotyypin löytäminen ja genominen karakterisointi

**Esimerkki 1.176**

Lukuisissa koirien zonooseja koskevissa katsauksissa käsitellään maailmanlaajuisesti tai hyvin spesifisesti vain tietyillä alueilla havaittujen zoonoottisten infektioiden pitkäkestoisia luetteloita. Tässä kuvaamme läntisen pallonpuoliskon keskivertoperheen koiraa, jonka omistaa keskivertoperhe, jolla ei ole riittävästi tietoa mahdollisista vaaroista, joita lemmikki saattaa levittää perheenjäsenille. Tämä luku perustuu puolikvantitatiiviseen riskianalyysiin, jonka avulla voidaan asettaa perhekoirien ihmisiin siirtämät mahdolliset terveysriskit paremmuusjärjestykseen. Yllättäen jokapäiväinen riski poikkeaa yleisesti odotetusta mahdollisesta riskistä, joka perustuu koirien perinteiseen vaarojen (zoonoosien) luokitteluun. Huomiota kiinnitetään ihmisen käyttäytymiseen perhekoiran suhteen ja vastuulliseen koiranomistajuuteen. Nykyaikaisiin suuntauksiin kuuluu lemmikkieläinten matkustaminen tai tuonti endeemisiltä alueilta endeemisille alueille ilman, että lemmikkieläinten omistajat tai kansanterveyslaitokset ovat riittävän hyvin perillä asiasta. Erittäin arvokasta on ESCCAP:n (www.esccap.org) tarjoama tieto, joka sisältää Euroopan maille (eläinlääkäreille ja lemmikkieläinten omistajille) tietoa koirien ja kissojen loisinfektioiden esiintyvyydestä ja ehkäisystä Euroopan tärkeimmillä kielillä. Lisäksi huomiota kiinnitetään koirien ruokinnassa ilmeneviin uusiin suuntauksiin, kuten luiden ja raakalihan syöttämiseen. Tällä voi olla vakavia seurauksia tavanomaisten zoonoosien, kuten salmonellan ja loisinfektioiden leviämiselle koirien välillä, mutta myös perheenjäseniin. Viimeisenä huomion kohteena on luonnonvaraisten zoonoosien (esim. Echinococcus multilocularis ja Baylisascaris spp.) leviämisen estäminen koirien välityksellä perheenjäseniin. Kansanterveydestä vastaavia viranomaisia olisi kannustettava kiinnittämään enemmän huomiota, ei ainoastaan lisäämään säännöksiä vaan ensisijaisesti valvomaan nykyisten sääntöjen noudattamista ja kannustamaan vastuulliseen lemmikkieläinten omistamiseen. Seuraeläinlääkäreiden ja (paikallisten) kansanterveysviranomaisten, lääkärit mukaan luettuina, olisi osallistuttava tasavertaisesti zoonoosien ehkäisyohjelmiin ("One health" -lähestymistapa). 575

**Tulos**

Koirat ja tartunnan siirtyminen ihmiseen, "kunnioitettu perheenjäsen?".

**Esimerkki 1.177**

Graafinen tiivistelmä Kohokohdat d DENV NS4B indusoi mitokondrioiden pidentymistä virusinfektion aikana d Pidentyneet mitokondriot ja viruksen aiheuttamat kierteiset kalvot ovat fysikaalisesti yhteydessä toisiinsa d NS4B estää mitokondrioiden fissiotekijän DRP1:n aktivoitumisen d Mitokondrioiden pidentyminen lievittää DENV:n aiheuttamaa RIG-I-riippuvaista synnynnäistä immuniteettia TIIVISTELMÄ Dengue-virus on kansanterveydellinen huolenaihe, koska sillä ei ole viruslääkkeitä eikä laajalti saatavilla rokotteita. DENV replikoituu ER:stä peräisin olevissa sytoplasmarakenteissa, joihin kuuluu alarakenteita, joita kutsutaan kierteisiksi kalvoiksi (CM); näiden kalvomuutosten tarkoitus on kuitenkin edelleen epäselvä. Määritämme, että DENV:n ei-rakenteellinen proteiini (NS)4B, lupaava lääkekohde, jonka funktio on tuntematon, assosioituu mitokondrioproteiineihin ja muuttaa mitokondrioiden morfologiaa infektion edistämiseksi. Infektion aikana NS4B indusoi mitokondrioiden pidentymistä, jotka ovat fyysisesti kosketuksissa CM:n kanssa. Tämä rakenneuudistus vaarantaa mitokondrioihin liittyvien kalvojen eheyden, jotka ovat synnynnäisen immuunisignaalin kannalta kriittisiä ER:n ja mitokondrioiden rajapintoja. CM:n biogeneesin ja mitokondrioiden pidentymisen spatio-temporaaliset parametrit liittyvät fissiotekijä Dynamin-Related Protein-1:n aktivoitumisen menetykseen. Mitokondrioiden pidentyminen edistää DENV:n replikaatiota ja lieventää RIG-I-riippuvaista interferonivasteiden aktivoitumista. Koska Zika-virusinfektio indusoi samanlaista mitokondrioiden pidentymistä, tämä häiriö voi suojata DENV:tä ja siihen liittyviä viruksia synnynnäiseltä immuniteetilta ja luoda suotuisan replikaatioympäristön.

**Tulos**

Dengue-virus häiritsee mitokondrioiden morfodynamiikkaa vaimentamaan sisäisen immuunivasteen vasteita artikla Dengue-virus häiritsee mitokondrioiden morfodynamiikkaa vaimentamaan sisäisen immuunivasteen vasteita

**Esimerkki 1.178**

Naudan coronavirus (BCoV) on taloudellisesti merkittävä naudan suolisto- ja hengitystiesairauksien aiheuttaja kaikkialla maailmassa. BCoV aiheuttaa tunnetusti vastasyntyneiden vasikoiden ripulia, täysikasvuisten nautojen talvista punatautia ja kaikenikäisten nautojen hengitystiesairauksia. Tässä luvussa kuvaamme yksinkertaisen ja tehokkaan protokollan nukleiinihappojen kokonaisuutena tapahtuvaa uuttamista varten, jota voidaan käyttää tavanomaisessa RT-PCR-määrityksessä. Tätä tekniikkaa käytetään rutiininomaisesti virologian laboratoriossamme BCoV:n havaitsemiseksi naudan uloste- ja nenänielunäytteistä.

**Tulos**

Naudan koronaviruksen osoittaminen tavanomaisella käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiolla

**Esimerkki 1.179**

Huomautus: tämä raportti on esipainos, eikä sitä ole vielä vertaisarvioitu. Uusien koronavirustapausten määrän kasvaessa sekä Kiinassa että sen ulkopuolella kansanterveysviranomaiset tarvitsevat näyttöä valvontatoimenpiteiden, kuten lentoasemille saapuvien henkilöiden lämpöseulonnan, tehokkuudesta. Arvioimme maastalähtö- ja maahantuloseulonnan tehokkuutta 2019-nCoV-infektion varalta. Perusskenaariossamme arvioimme, että 46,5 prosenttia (95 %:n keskiarvo: 35,9-57,7) tartunnan saaneista matkustajista jäisi havaitsematta, riippuen itämisaika-ajasta, maastalähtö- ja maahantuloseulonnan herkkyydestä ja oireettomien tapausten osuudesta. Lentoasemien seulonnalla ei todennäköisesti havaita riittävää osuutta 2019-nCoV-tartunnan saaneista matkustajista, jotta tartunnan saaneiden matkustajien maahantulo voitaisiin välttää. Kehitimme online-työkalun, jotta tuloksia voidaan päivittää sitä mukaa, kun uutta tietoa tulee saataville. Kiinasta on 29. tammikuuta 2019 mennessä raportoitu 5 997 vahvistettua ja 9 239 epäiltyä 2019-nCoV-tapausta, ja tähän mennessä on vahvistettu 132 kuolemantapausta 1 . Tapauksia oli ainakin 15 muussa maassa, ja ne tunnistettiin oireiden ja Kiinan Hubein maakuntaan suuntautuneiden viimeaikaisten matkojen perusteella, mikä viittaa vahvasti siihen, että ilmoitetut tapaukset muodostavat vain pienen osan tartunnan saaneiden henkilöiden todellisesta määrästä Kiinassa 2 . Vaikka tautia eniten levinneellä alueella, Hubein maakunnassa, on nyt lopetettu lentomatkustaminen ja suljettu tärkeimmät julkiset liikenneväylät 3, on epätodennäköistä, että näillä toimenpiteillä pystytään täysin hillitsemään taudinpurkausta. Huolimatta rajallisesta näytöstä sen tehokkuudesta 4,5 lentoasemilla tehdään usein seulontatarkastuksia, joilla pyritään rajoittamaan tartunnan saaneiden tapausten pääsyä muille alueille tai maihin. Tässä arvioidaan käytettävissä olevan näytön perusteella, miten tehokkaasti maastapoistumis- ja maahantuloseulonnalla voidaan havaita 2019-nCoV:tä sairastavat matkustajat. Tarjoamme myös verkkosovelluksen, jotta tuloksia voidaan päivittää sitä mukaa, kun uutta tietoa on saatavilla. . CC-BY 4.0 Kansainvälinen lisenssi Se asetetaan saataville tekijän/rahoittajan, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen ikuisesti. on (jota ei ole vertaisarvioitu) Tämän esipainoksen tekijänoikeuden haltija .

**Tulos**

Lentoasemien seulonnan tehokkuus 2019-nCoV-tartunnan saaneiden matkustajien havaitsemisessa

**Esimerkki 1.180**

Sen jälkeen, kun "lavantauti-Mary", nainen, joka tartutti ainakin 47 ihmistä lavantautiin 1900-luvun alussa, tunnistettiin ja vangittiin, epidemiologit ovat tunnustaneet, että "superlevittävillä" isännillä on keskeinen rooli tautiepidemioissa. Tällaista vaihtelua tarttumisessa esiintyy myös yhteisön sisällä olevien lajien välillä (monistumisisännät) ja elinympäristölaikkujen välillä eri puolilla maisemaa (tautien "kriisipesäkkeet"), mikä korostaa tarvetta integroivalle kehykselle, jonka avulla voidaan tutkia tarttumisen heterogeenisuutta. Tässä tutkimuksessa tehdään yhteenveto ihmis-, kasvi- ja eläintauteja koskevasta kirjallisuudesta, jotta voidaan arvioida isännän, patogeenin ja ympäristötekijöiden suhteellista osuutta siirron heterogeenisuuteen isäntien ja tilan välillä. Osoitamme, että isäntä- ja alueellinen heterogeenisuus liittyvät läheisesti toisiinsa ja että tartunnan saaneiden yksilöiden, lajien tai ympäristölaikkujen osuuden kvantitatiivinen arviointi yleiseen tartuntaan voi auttaa hoitostrategioita. Lopuksi esitämme hypoteeseja siitä, miten taudinaiheuttajan luonnollinen historia vaikuttaa leviämisen heterogeenisyyteen, ja tuomme esiin uusia rajoja leviämisen heterogeenisuuden tutkimuksessa.

**Tulos**

Superlevittäjistä tautien kriisipesäkkeisiin: siirtymisen yhdistäminen isäntien ja tilan välillä

**Esimerkki 1.181**

Aiemmin on väitetty, että vakiintuneiden T-solulinjojen tai -kloonien fuusio on vaikeaa. Raportoimme nyt kokemuksistamme sekä rottien T-solukloonien että hiirten T-solulinjojen pitkäaikaisviljelmien fuusioinnista rottien W/Fu (C58NT)D:hen. Rotan T-solukloonien fuusiossa saadut hybridit ilmentävät samanlaisia antigeenispesifisyyksiä kuin kantakloonit. Lisäksi C58:a käytettiin hiiren T-solulinjojen lajien väliseen hybridisointiin. Lajinsisäisten ja lajien välisten hybridien spesifisyys säilyi subkloonauksen avulla. Päätelmämme on, että C58-solulinjaa voidaan käyttää jatkuvasti kasvavien ja riittävän stabiilien monoklonaalisten T-solureagenssien tuottamiseen sekä lajinsisäisellä että lajien välisellä hybridisaatiolla.

**Tulos**

CD4-rotta-X-rotta- ja hiiri-X-rotta-T-soluhybridoomat, jotka on tuotettu fuusioimalla vakiintuneita T-solulinjoja ja -klooneja W/Fu (C58NT)D:hen.

**Esimerkki 1.182**

Tässä tutkimuksessa tarkastellaan turvallisuus- ja turvatoimien koettua merkitystä matkailijoiden ja palveluntarjoajien näkökulmasta. Thaimaassa toimivien palveluntarjoajien kanssa tehtyjen puolistrukturoitujen haastattelujen avulla tunnistetaan turisteilta kysyttäviä turvatoimia, jotka poikkeavat kirjallisuudessa esitetyistä. Tutkijat keräsivät kyselylomakkeella tietoja Thaimaahan matkustavilta kansainvälisiltä vapaa-ajan ja liikematkailijoilta turvallisuus- ja turvatoimien tärkeydestä. Analyysi 23 turvallisuus- ja turvatoimenpiteen tärkeydestä osoittaa kuuden tekijän mallia toimenpiteiden pohtimisessa. Tärkein toimenpide ei kuitenkaan ole yhdessäkään faktorissa. Siksi tutkimuksessa pohditaan analyysimenetelmiin liittyviä kysymyksiä ja esitetään kysymyksiä strukturoitujen aineistojen arvosta ja jos-jos-ehtojen tunnistamisen ansioista tutkimusmenetelmien, kuten pitkien haastattelujen, avulla. Tulosten käytännön, teoreettisten ja metodologisten arvojen tarkasteluun kuuluu myös tutkimustarpeiden pohtiminen ja turvallisuustoimenpiteitä koskevan tiedon hyödyllisyys yritysten päätöksenteossa.

**Tulos**

Käsitykset tärkeydestä ja siitä, mikä on riittävä turvallisuus ☆.

**Esimerkki 1.183**

Tartuntatautien molekyylidiagnostiikka ja erityisesti nukleiinihappoihin perustuvat menetelmät ovat kliinisen laboratoriodiagnostiikan nopeimmin kasvava ala. Nämä sovellukset korvaavat tai täydentävät asteittain mikrobiologian laboratorioiden viljelyyn perustuvia, biokemiallisia ja immunologisia määrityksiä. Ensimmäisen sukupolven nukleiinihappomääritykset olivat perinteisten testien kaltaisia monoparametrisia, jotka määrittivät vain yhden parametrin. Teknologian parannukset ja uudet lähestymistavat avaavat nyt mahdollisuuden kehittää moniparametrisia määrityksiä, joissa käytetään mikrosarjoja, multiplex-nukleiinihappojen monistustekniikoita tai massaspektrometriaa, kun taas suljettujen putkijärjestelmien käyttöönotto on johtanut nopeaan mikrobidiagnostiikkaan, jossa kontaminaatioriski on vähentynyt. Kun ensimmäiset määritykset keskittyivät mikrobipatogeenien havaitsemiseen ja tunnistamiseen, nämä uudet tekniikat ovat avanneet tietä useiden antibioottiresistenssin determinanttien rinnakkaiselle määrittämiselle tai mikrobiepidemiologian ja -valvonnan suorittamiselle geneettisellä tasolla. Fenotyyppipohjaiset menetelmät Yksi vanhimmista mutta edelleen erittäin tärkeistä kliinisen bakteriologian menetelmistä on ihmisen patogeenien osoittaminen näytteen suoralla mikroskooppisella tutkimuksella. Monet

**Tulos**

Molekyylidiagnostiikan nykysovellukset ja tulevaisuuden suuntaukset kliinisessä bakteriologiassa

**Esimerkki 1.184**

Jotta voitaisiin kehittää tehokkaampi rokotusstrategia hengitystieinfektion (RSV) vaikutusten vähentämiseksi erityisesti pienillä vauvoilla (alle 6 kuukauden ikäiset), on ymmärrettävä RSV:n leviämisdynamiikkaa. Menetelmät. Toteutimme Filippiinien Biliranin maakunnassa vuosina 2014-2016 yhteisöpohjaisen prospektiivisen kohorttitutkimuksen, joka koski alle 5-vuotiaita lapsia. Keräsimme nenänielun pyyhkäisynäytteitä oireilevilta lapsilta, joilla oli akuutti hengitystieinfektio (ARI) kotikäyntien aikana ja terveydenhuoltolaitoksissa. Kotitalouksissa (n = 181), joissa oli RSV-positiivisia ARI-tapauksia (RSV-ARI), tunnistimme myös saman kotitalouden muiden <5-vuotiaiden lasten ARI-episodit. Lisäksi määrittelimme sarjavälin, jonka avulla arvioimme peruslisääntymisluvun (R 0 ), eli yhden primaaritapauksen aiheuttamien sekundaaritapausten keskimääräisen lukumäärän. Tulokset. Analysoiduista 181 kotitaloudesta löytyi 212 RSV-ARI-tapausta 152 kotitaloudessa, joissa oli yksi tapaus, ja 29 kotitaloudessa, joissa oli useita tapauksia, joihin sisältyi 29 1. RSV-ARI-tapausta ja 31 2. RSV-ARI-tapausta. Löysimme myös mahdollisia indeksitapauksia alle 5-vuotiaista lapsista samassa taloudessa 29,0 prosentissa (18:ssa 62:sta) RSV-ARI:n saaneista pikkulapsista. Arvioitu keskimääräinen sarjaväli oli 3,2 päivää, ja R 0:n arvioitiin olevan 0,92-1,33 RSV-A:n osalta ja 1,04-1,76 RSV-B:n osalta, mikä vaihteli eri aikoina (2014 ja 2015) ja eri paikoissa. Päätelmät. Pienet imeväisikäiset saavat RSV-infektion todennäköisesti samassa taloudessa asuvilta vanhemmilta lapsilta. Siksi vanhempiin lapsiin kohdistuva rokottaminen saattaa suojata pikkulapsia RSV-infektiolta.

**Tulos**

Avoin foorumi Tartuntataudit Hengitystieoireyhtymäviruksen leviäminen alle 5-vuotiaiden lasten keskuudessa Filippiinien maaseutuyhteisöjen kotitalouksissa.

**Esimerkki 1.185**

NICEATM ja ICCVAM kutsuivat koolle kansainvälisen seminaarin, jossa tarkasteltiin ihmisten ja eläinten rokotteiden tehon ja turvallisuuden testausmenetelmien tieteellistä tilannetta ja kartoitettiin mahdollisuuksia kehittää uusia ja parannettuja menetelmiä, joilla voidaan edelleen vähentää, tarkentaa ja korvata eläinten käyttöä. Puhujat ja työpajan osallistujat käsittelivät yksityiskohtaisesti kuutta aihetta, ja niistä raportoidaan kuuden raportin sarjassa. Tässä työpajaraportissa, joka on sarjan toinen raportti, annetaan suosituksia muiden kuin eläinperäisten menetelmien ja strategioiden nykyisestä ja tulevasta käytöstä eläinlääkinnällisten rokotteiden tehokkuustestissä. Työpajan osallistujat suosittelivat, että eläinkäytön korvaamiseksi tulevaisuudessa etusijalle asetetaan rokotteet, 1) joissa käytetään suuria määriä eläimiä testiä kohti ja joista tuotetaan vuosittain useita sarjoja, 2) joihin liittyy huomattavaa kipua ja tuskaa eläimille toimenpiteiden aikana, 3) joiden toiminnallinen suojaava antigeeni on tunnistettu, 4) joissa käytetään ihmiselle vaarallisia vierasperäisiä eläimiä tai zoonoottisia organismeja ja 5) joissa käytetään patogeenejä, jotka voivat helposti levitä luonnonvaraisiin eläinpopulaatioihin. Tärkeimmiksi todetut rokotteet olivat rokotteita raivotautia, Leptospira spp. ja Clostridium spp. vastaan, erysipelasta, vieraiden eläinten tauteja, siipikarjan tauteja ja kalatauteja vastaan. Eläinlääkinnällisissä rokotteissa käytettävien rokotteiden suojaavien antigeenien tunnistamista, puhdistamista ja karakterisointia koskevaa lisätutkimusta pidettiin myös ensisijaisena. kriittiset tietämys- ja tietopuutteet, mukaan luettuina mahdollisuudet soveltaa uutta tiedettä ja teknologiaa. Suosituksiin sisältyivät 1) tutkimukset eri adjuvanttien suhteellisesta vaikutuksesta antigeenin kvantifiointimäärityksiin, 2) tutkimukset uuttomenetelmistä, joita voitaisiin käyttää rokotteisiin, jotka sisältävät adjuvantteja, jotka voivat häiritä antigeenimäärityksiä, ja 3) raivotaudin ja jäykkäkouristuksen in vitro -tehokkuusmenetelmien nykytilanteen tarkastelu, jotta niitä voitaisiin mahdollisesti soveltaa vastaaviin eläinrokotteisiin. Työpajan osallistujat suosittelivat kansainvälisen yhdenmukaistamisen ja yhteistyön lisäämistä sekä tiiviimpää yhteistyötä ihmis- ja eläinlääketieteen tutkijoiden välillä edistyksen nopeuttamiseksi. Työpajan suositusten toteuttamisen odotetaan edistävän vaihtoehtoisia in vitro -menetelmiä eläinlääkinnällisten rokotteiden tehokkuustesteissä, jotka hyödyttävät eläinten hyvinvointia ja korvaavat eläinten käytön samalla kun varmistetaan ihmisten ja eläinten terveyden jatkuva suojelu.

**Tulos**

NICEATM-ICCVAM # Kansainvälinen seminaari vaihtoehtoisista menetelmistä eläinten käytön vähentämiseksi, tarkentamiseksi ja korvaamiseksi rokotteiden tehon ja turvallisuuden testauksessa: Non-animal replacement methods for the veterinary vaccine potency testing: state of the science and future directions. vertaisarviointi, joka on tehty kansallisen toksikologisen ohjelman (National Toxicology Program) vaihtoehtoisten toksikologisten menetelmien arviointikeskuksen (NICEATM) vastuulla. vertaisarviointi, joka on tehty kansallisen toksikologisen ohjelman (National Toxicology Program) vaihtoehtoisten toksikologisten menetelmien arviointikeskuksen (NICEATM) vastuulla.

**Esimerkki 1.186**

Uusien biomarkkereiden etsintä sairauksien diagnosoimiseksi, ennustamiseksi ja terapeuttiseksi seurannaksi jatkuu vilkkaana, vaikka uusien luotettavien markkereiden löytämisessä on onnistuttu yhä heikommin. Jotkin nykyisistä kliinisessä käytössä olevista merkkiaineista eivät tarjoa optimaalista herkkyyttä ja spesifisyyttä, ja eturauhassyövän antigeeni (PSA) on yksi monista tällaisista esimerkeistä. Proteomitekniikoiden ja systeemilähestymistapojen yleistyminen tautien patofysiologian tutkimisessa on herättänyt uusien biomarkkereiden etsimisen uudelleen henkiin. Erityisesti proteiinimikrosarjojen käyttö on noussut voimakkaana välineenä biologisten näytteiden laajamittaiseen testaamiseen. Noin puolet proteiinimikrosiruja koskevista raporteista on julkaistu kahden viime vuoden aikana erityisesti biomarkkerien löytämisen alalla. Tässä katsauksessa käsittelemme proteiinimikrosarjatekniikoiden sovelluksia, jotka tarjoavat ainutlaatuisia mahdollisuuksia löytää uusia biomarkkereita.

**Tulos**

Proteiinimikrosirujen sovellukset biomarkkereiden löytämiseksi

**Esimerkki 1.187**

a b s t r a k t isäntäsolun mRNA:n N-7- ja 2 0 -O-metylaatio tapahtuu tuman sisällä ja johtaa cap-rakenteiden (cap 0, m 7 GpppN; cap 1, m 7 GpppNm) syntymiseen, jotka kontrolloivat geeniekspressiota moduloimalla ydinvientiä, spleikkausta, liikevaihtoa ja proteiinisynteesiä. Huomionarvoista on, että RNA:n cap-modifikaatio vaikuttaa myös nisäkässolujen isäntäpuolustukseen, sillä viruksen RNA:n, josta puuttuu 2 0 -O-metylaatio, tunnistaa ja estää IFIT1, interferonin (IFN) stimuloima geeni (ISG). Näin ollen patogeeniset virukset, jotka replikoituvat sytoplasmassa, ovat kehittäneet mekanismeja, joilla ne voivat kiertää IFIT1:n rajoituksen ja helpottaa nisäkässolujen infektiota. Näitä ovat mm: (a) Cap 1 -rakenteiden luominen RNA:han cap-snatchingin tai viruksen koodaamien 2 0 -O-metyylitransferaasien avulla, b) cap-riippumattomien translaatiokeinojen käyttäminen tai c) RNA:n sekundäärirakenteellisten motiivien käyttäminen IFIT1:n sitoutumisen estämiseksi. Tässä katsauksessa käsitellään uusia näkemyksiä siitä, miten viruksen RNA:n 5 0 -loppuosan erityismodifikaatiot muokkaavat isännän patogeenin tunnistamisreaktioita infektion ja taudin edistämiseksi.

**Tulos**

Viruksen RNA:n, josta puuttuu 2'-O-metylaatio, synnynnäisen immuunijärjestelmän rajoittaminen ja antagonismi.

**Esimerkki 1.188**

Epizootic Epitheliotropic Disease Virus (EEDV; Salmonid Herpesvirus-3) aiheuttaa vakavan taudin hautomossa kasvatetulle järvitaimenelle (Salvelinus namaycush), joka uhkaa tämän lajin elvyttämispyrkimyksiä Pohjois-Amerikassa. Koska EEDV:tä ei nykyisin pystytä replikoimaan in vitro, on etsittävä toistettavissa olevaa, herkkää ja spesifistä määritystä, jonka avulla EEDV:n havaitseminen ja kvantifiointi on mahdollista ajallisesti ja kustannustehokkaasti. Tässä kuvataan silmukkavälitteinen isoterminen monistusmääritys (LAMP), joka kehitettiin EEDV:n kvantitatiiviseen havaitsemiseen tartunnan saaneista kalakudoksista. Vastikään kehitetty LAMP-reaktio optimoitiin kalseiinin läsnäollessa, ja parhaat tulokset saatiin käyttämällä 2 mM MgCl 2 :ta, 1,8 mM dNTP:tä ja inkubaatiolämpötilassa 67,1 °C. Menetelmä oli erittäin spesifinen EEDV:lle, sillä se ei osoittanut ristireaktiivisuutta useiden kalavirusten kanssa, mukaan lukien Salmonid Herpesvirus -1, -2, -4 ja -5, Infectious Pancreatic Necrosis Virus, Spring Viremia of Carp Virus, Infectious Hematopoietic Necrosis Virus, Golden Shiner Reovirus, Fathead Minnow Nidovirus ja Viral Hemorrhagic Septicemia Virus. EEDV-LAMP-menetelmän analyyttisen herkkyyden arvioitiin olevan vain 16 plasmidikopiota reaktiota kohti. Kun käytettiin infektoitunutta kalakudosta, positiivinen reaktio saatiin, kun infektoitunutta kiduskudosnäytettä, joka sisälsi 430 viruskopiota/μg, laimennettiin jopa viisi kertaluokkaa. Vastikään kehitetyn LAMP-määrityksen herkkyys oli 84,3 % ja spesifisyys 93,3 % verrattuna SYBR Green qPCR-määritykseen. EEDV:n kvantitatiivisen LAMP-määrityksen korrelaatiokerroin (R 2 = 0,980) ei eronnut merkittävästi SYBR Green -kvantitatiivisesta PCR-määrityksestä (p > 0,05). Koska tämä kvantitatiivinen LAMP-määritys on kustannus- ja aikatehokas, se soveltuu järvitaimenpopulaatioiden seulontaan ja kliinisten tapausten alustavaan diagnosointiin.

**Tulos**

Silmukkavälitteisen isotermisen monistusmäärityksen kehittäminen epitsoottisen epitelioottisen tautiviruksen (salmonid herpesvirus-3) havaitsemiseksi ja kvantifioimiseksi.

**Esimerkki 1.189**

Herpesvirusinfektioiden torjumiseksi tarvitaan edelleen uusia hoitovaihtoehtoja. Tässä raportoidaan uuden ei-nukleosidisten antiviraalisten aineiden perheen suunnittelu, synteesi ja antiviraalinen arviointi, joka perustuu 1-[x-(4-bromifenoksi)alkyyli]urasiilijohdannaisiin, jotka ovat aiemmin raportoituja ihmisen sytomegaloviruksen (HCMV) estäjiä. N-(4-fenoksifenyyli)asetamidi-sivuketjun lisääminen N 3 -ketjuun lisäsi niiden tehoa ja laajensi aktiivisuusspektriä. Sarjan aktiivisimmilla yhdisteillä on submikromolaarinen aktiivisuus HCMV:n eri viruskantoja ja varicella zoster -viruksen (VZV) lisääntymistä vastaan HEL-soluviljelmissä. Inaktiivisuus muita DNA- ja RNA-viruksia, kuten herpes simplex -virusta 1/2 vastaan, viittaa uuteen viruslääkkeiden vaikutusmekanismiin.

**Tulos**

Kohti HCMV-VZV-kaksoisinhibiittorien löytämistä: Pitkäketjuisten 2-urasiili-3-yyli-N-(4-fenoksifenyyli)asetamidien synteesi, rakenne-aktiivisuusanalyysi ja sytotoksisuustutkimukset.

**Esimerkki 1.190**

Viimeisten kolmen vuosikymmenen aikana on yhä enemmän ymmärretty, että rintaruokinta ei ainoastaan täytä imeväisen ravitsemuksellisia tarpeita, vaan se tarjoaa myös runsaasti puolustustekijöitä, jotka suojaavat imeväistä ja/tai maitorauhasta. Tämän huomattavan puolustusjärjestelmän tutkiminen ihmismaidossa on kuitenkin ollut vaikeaa, koska se on biokemiallisesti monimutkainen ja koska ihmismaidossa on pieniä pitoisuuksia tiettyjä erittäin potentiaalisia aineita, tarve kehittää erityisiä menetelmiä tiettyjen tekijöiden kvantifioimiseksi, koska niiden partikkelimuodot ihmisen maidossa ovat erilaisia, koska jotkin aineet ovat lokeroituneita ja koska imetyksen kesto ja muut aineelliset tekijät vaikuttavat dynaamisesti systeemin komponenttien pitoisuuksiin tai toimintoihin. Tässä luvussa esitetään yhteenveto nykyisistä tiedoista, jotka koskevat molekyylimuotoja, pitoisuuksia maidossa imetyksen eri vaiheissa, biologisia aktiivisuuksia, rasvoittumista vastaanottavan lapsen kohdalla ja in vivo -toimintoja ihmismaidossa olevista puolustustekijöistä. (2 ) ihmismaidon immunologisen järjestelmän useimpia komponentteja tuotetaan imetyksen aikana ja asteittaisen vieroituksen aikana; (3 ) nämä tekijät ovat yleensä yhteydessä muihin limakalvokohtiin; (4 ) ne ovat sopeutuneet vastustamaan ruoansulatusta vastaanottavan lapsen ruoansulatuskanavassa; (5 ) ne suojaavat ei-tulehduksellisilla mekanismeilla; ja (6 ) ne vaikuttavat synergistisesti toistensa tai vastaanottajan tuottamien puolustustekijöiden kanssa. Taulukossa I on lueteltu edustavia esimerkkejä liukoisista suoja-aineista.

**Tulos**

Maidon puolustusaineet A. Ihmisen maidon puolustusaineet A. Ihmisen maidossa olevat tekijät, joilla on muita kuin ravitsemuksellisia tehtäviä Ihmisen maidon puolustusaineet ovat biokemiallisesti erilaisia, mutta niillä on tiettyjä yhteisiä piirteitä: (1 ) niiden välillä on käänteiset suhteet 728 Armon

**Esimerkki 1.191**

Ihmisen koronavirukset (HCoV:t) ovat tunnettuja hengitystiepatogeenejä, jotka liittyvät moniin hengitystieoireisiin. Viimeisten 14 vuoden aikana vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) ja Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (MERS-CoV) puhkeaminen on nostanut HCoV:t tutkijayhteisön huomion keskipisteeseen, koska ne ovat erittäin patogeenisiä ihmisissä. HCoV:n ja isännän vuorovaikutuksen tutkiminen on edistänyt merkittävästi HCoV:n patogeneesin ymmärtämistä. Tässä katsauksessa käsittelemme joitakin viimeaikaisia havaintoja isäntäsolujen tekijöistä, joita HCoV:t saattavat hyödyntää helpottaakseen omaa replikaatiosykliään. Käsittelemme myös erilaisia soluprosesseja, kuten apoptoosia, synnynnäistä immuniteettia, ER-stressireaktiota, mitogeeni-aktivoitua proteiinikinaasireittiä (MAPK) ja ydintekijä kappa B:n reittiä (NF-κB), joita HCoV:t voivat muokata. Taudit 2016, 4, 26 2 of 28 mutta joiden kuolleisuus on paljon suurempi, noin 35 % [17] . Toisin kuin SARS-CoV, jossa esiintyy superlevinneisyyttä, MERS-CoV:n leviäminen on maantieteellisesti rajoitettua [12] . Itse asiassa raportoidut MERS-CoV-tapaukset ovat usein peräisin Lähi-idän maissa esiintyneistä taudinpurkauksista tai äskettäisistä matkoista alueelle [18, 19] . CoV:t ovat ryhmä suuria, Coronaviridae-heimoon kuuluvia vaipallisia RNA-viruksia. Yhdessä Artierivirdaen ja Roniviridae-heimon kanssa Coronaviridae luokitellaan Nidovirale-järjestykseen [20] . Kansainvälisen virustaksonomian komitean (International Committee for Taxonomy of Viruses) ehdotuksen mukaan CoV:t luokitellaan edelleen neljään pääsukuun, alfa-, beeta-, gamma- ja deltakoronaviruksiin, jotka perustuvat koko viruksen genomin sekvenssivertailuun [21, 22] . Nämä CoV:t voivat tartuttaa monenlaisia isäntiä, kuten lintuja, sikoja ja ihmisiä. HCoV:t on tunnistettu joko alfa- tai beetakoronavirussukuun kuuluviksi, mukaan lukien alfakoronavirukset, HCoV-229E ja HCoV-NL63, ja beetakoronavirukset, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV ja HCoV-OC43 (taulukko 1) . Elektronimikroskoopissa CoV-virionit näyttävät karkeasti pallomaisilta tai kohtalaisen pleomorfisilta, ja niissä on selviä "keppimäisiä" ulokkeita, jotka piikkiproteiini (S) muodostaa [23, 24] . Virionin sisällä on spiraalimaisesti symmetrinen nukleokapsidi, joka ympäröi yksijuosteista ja positiivisessa mielessä olevaa RNA-virusgenomia, joka on poikkeuksellisen suuri, noin 26-32 kilobaasia [20] . Positiivisesti merkityksellinen viruksen genominen RNA toimii sanansaattaja-RNA:na (mRNA), joka koostuu 5 1 -pääteisestä cap-rakenteesta ja 3 1 -poly-A-hännästä. Tämä genominen RNA toimii kolmessa eri ominaisuudessa viruksen elinkaaren aikana: (1) infektiosyklin alkuperäisenä RNA:na, (2) replikaation ja transkription mallina ja (3) substraattina, jonka avulla se pakataan jälkeläisvirukseksi. Replikaasi-transkriptaasi on ainoa genomista käännetty proteiini, kun taas kaikkien myöhempien avoimien lukukehysten virustuotteet ovat peräisin subgenomisista mRNA:ista. Kaikissa CoV-viruksissa replikaasigeenin osuus genomista on noin 5 1 kaksi kolmasosaa, ja se koostuu kahdesta päällekkäisestä avoimesta lukukehyksestä (ORF), ORF1a ja ORF1b, jotka koodaavat 16 ei-rakenteellista proteiinia. Viimeinen kolmannes CoV:n genomista RNA:ta koodaa CoV:n kanonista neljän rakenneproteiinin geenisarjaa järjestyksessä piikki (S), kuori (E), kalvo (M) ja nukleokapsidi (N). Lisäksi rakenneproteiinigeenien varrelle on sijoittunut useita ylimääräisiä ORF:iä, ja niiden määrä ja sijainti vaihtelee CoV-lajien välillä [25] (kuva 1). Taudit 2016, 4, 26 2 of 27 SARS-CoV, mutta huomattavasti korkeampi, noin 35 prosentin kuolleisuus [17]. Toisin kuin SARS-CoV:lla, jolla esiintyy superlevittäytymistapahtumia, MERS-CoV:n leviäminen on maantieteellisesti rajoitettua [12]. Itse asiassa ilmoitetut MERS-CoV-tapaukset ovat usein peräisin Lähi-idän maissa esiintyneistä taudinpurkauksista tai äskettäisistä matkoista alueelle [18,19]. CoV:t ovat ryhmä suuria, Coronaviridae-heimoon kuuluvia vaipallisia RNA-viruksia. Yhdessä Artierivirdaen ja Roniviridae-heimon kanssa Coronaviridae luokitellaan Nidovirale-järjestykseen [20] . Kansainvälisen virustaksonomian komitean (International Committee for Taxonomy of Viruses) ehdotuksen mukaan CoV:t luokitellaan edelleen neljään pääsukuun, alfa-, beeta-, gamma- ja deltakoronaviruksiin, jotka perustuvat kokonaisten virusgenomien sekvenssivertailuihin [21, 22] . Nämä CoV:t voivat tartuttaa monenlaisia isäntiä, kuten lintuja, sikoja ja ihmisiä. HCoV:t on tunnistettu kuuluvan joko alfa- tai betakoronavirussukuun, mukaan lukien alfakoronavirukset HCoV-229E ja HCoV-NL63 sekä betakoronavirukset HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV ja HCoV-OC43 (taulukko 1) . Elektronimikroskoopissa CoV-virionit näyttävät karkeasti pallomaisilta tai kohtalaisen pleomorfisilta, ja niissä on selviä "keppimäisiä" ulokkeita, jotka piikkiproteiini (S) muodostaa [23, 24] . Virionin sisällä on spiraalimaisesti symmetrinen nukleokapsidi, joka ympäröi yksijuosteista ja positiivisessa mielessä olevaa RNA-virusgenomia, joka on poikkeuksellisen suuri, noin 26-32 kilobaasia [20] . Positiivisesti merkityksellinen viruksen genominen RNA toimii sanansaattaja-RNA:na (mRNA), johon kuuluu 5′-terminaalinen cap-rakenne ja 3′ poly-A-häntä. Tämä genominen RNA toimii kolmessa ominaisuudessa viruksen elinkaaren aikana: (1) infektiosyklin alkuperäisenä RNA:na, (2) replikaation ja transkription templaattina ja (3) substraattina, jonka avulla se pakataan jälkeläisvirukseksi. Replikaasi-transkriptaasi on ainoa genomista käännetty proteiini, kun taas kaikkien myöhempien avoimien lukukehysten virustuotteet ovat peräisin subgenomisista mRNA:ista. Kaikissa CoV-viruksissa replikaasigeenin osuus genomista on noin 5′ kaksi kolmasosaa, ja se koostuu kahdesta päällekkäisestä avoimesta lukukehyksestä (ORF), ORF1a ja ORF1b, jotka koodaavat 16 ei-rakenteellista proteiinia. Viimeinen kolmannes CoV:n genomista RNA:ta koodaa CoV:n kanonista neljän rakenneproteiinin geenisarjaa järjestyksessä piikki (S), kuori (E), kalvo (M) ja nukleokapsidi (N). Lisäksi rakenneproteiinigeenien varrelle on sijoittunut useita ylimääräisiä ORF:iä, ja niiden määrä ja sijainti vaihtelee CoV-lajien välillä [25] (kuva 1 ).

**Tulos**

Ihmisen koronavirukset: Viruksen ja isännän vuorovaikutusten tarkastelu.

**Esimerkki 1.192**

Multiplex-PCR:stä on tullut ensisijainen testi useiden hengitystievirusten osoittamiseksi kliinisistä näytteistä. Eri PCR-määritysten suoria vertailuja on kuitenkin vähän. Tässä tutkimuksessa verrataan neljää erilaista multipleksi-PCR-määritystä yleisimpien hengitystievirusten talteenottamiseksi. Testasimme 213 hengitystietutkimusnäytettä neljällä eri multipleksi-PCR-määrityksellä: xTAG respiratory viral panel fast (Abbott Molecular Laboratories), Fast-track Respiratory Pathogen assay (Fast-track Diagnostics), Easyplex respiratory pathogen 12 kit (Ausdiagnostics) ja talon sisäinen multipleksi reaaliaikainen PCR-määritys. Näiden neljän määrityksen suorituskyky oli hyvin samankaltainen, ja kaikkien vertailujen yksimielisyys oli 93-100 prosenttia. Muut seikat, kuten läpäisykyky, tekniset vaatimukset ja kustannukset, ovat todennäköisesti yhtä tärkeitä päätettäessä, mitä näistä määrityksistä käytetään, kun otetaan huomioon niiden vertailukelpoinen suorituskyky.

**Tulos**

Neljän multipleksi-PCR-määrityksen vertailu viruspatogeenien havaitsemiseksi hengitystietutkimusnäytteistä.

**Esimerkki 1.193**

Bakteriofagi q~6:n genomi koostuu kolmesta ainutlaatuisesta kaksijuosteisen RNA:n segmentistä, jotka on pakattu prokapsidiin. Yksi segmentti voi rekombinoitua toisen kanssa alueilla, joilla on vain vähän samankaltaisia sekvenssejä. Vaikka rekombinaatio on siis heterologista, risteyskohdat koostuvat yleensä kahdesta kuuteen identtisestä nukleotidista. Rekombinaatioiden esiintymistiheyttä lisäävät olosuhteet, jotka estävät tai haittaavat miinusjuosteen synteesiä yhdestä plusjuostesegmentistä. Rekombinaatio toimii korjausjärjestelmänä sekä keinona muuttaa viruksen geneettistä rakennetta. Reaktiota voidaan tutkia in vitro pakkaus- ja replikaatiojärjestelmässä, jossa on mukana puhdistettuja prokapsiideja ja ssRNA:ta. Vaikka RNA-virusten rekombinaatiomekanismeissa on silmiinpistäviä eroja, niissä on myös vahvoja yhtäläisyyksiä. Kaikissa näyttäisi käytettävän rekombinaatiossa kopiovalinta-templaatinvaihtoa. q~ 6 -järjestelmä on käyttökelpoinen malli muiden segmentoitujen kaksijuosteisten RNA-virusten, kuten Reoviridae-heimon, rekombinaatiolle.

**Tulos**

Heterologinen rekombinaatio bakteriofagin (I)6 segmentoidussa dsRNA-genomissa Yleistä viruksen RNA-rekombinaation taustasta.

**Esimerkki 1.194**

Taustaa: SARS-CoV-2:n (aiemmalta nimeltään 2019-nCoV) leviäminen on jo saavuttanut pandemian mittasuhteet, ja se on vaikuttanut yli 100 maahan muutamassa viikossa. Eri menetelmien diagnostisen arvon selvittäminen, erityisesti SARS-CoV-2-infektion vasta-ainemääritysten diagnostisen lisäarvon selvittäminen, auttaa parantamaan patogeenisen diagnoosin herkkyyttä, tarjoamaan oikea-aikaista hoitoa ja erottamaan tartunnan saaneet tapaukset terveistä, mikä estää uusien epidemioiden puhkeamisen. Menetelmät: Fuyangin toisessa kansansairaalassa 22. tammikuuta 2020-28. helmikuuta 2020 vahvistetun SARS-CoV-2-infektion saaneiden 38 potilaan sairauskertomukset kerättiin ja analysoitiin takautuvasti. Sairaalahoidon aikana kerättiin näytteitä, mukaan lukien kurkunpyyhkäisynäytteet, yskökset ja seerumi, ja mitattiin viruksen RNA ja seerumin IgM-IgG-vasta-aineet SARS-CoV-2:lle. Eri menetelmien havaittavuus sekä vasta-ainetestin lisädiagnoosiarvo SARS-CoV-2-infektion osalta analysoitiin. Tulokset: IgM- ja IgG-vasta-aineiden seropositiivisuusaste oli 38 potilaalla 50,0 % ja 92,1 %. Kaksi potilasta pysyi seronegatiivisena koko sairauden ajan. Sairauden alkuvaiheessa ysköksenäytteiden RNA-testillä oli korkein havaittavuus (92,3 %), ja seuraavaksi korkein oli kurkkupyyhkäisynäytteiden RNA-testi (69,2 %), ja vasta-ainemäärityksillä oli alhaisemmat positiiviset osuudet (IgM, 23,0 %, IgG, 53,8 %). Vasta-ainemääritysten herkkyys ylitti RNA-testin herkkyyden kahdeksannesta päivästä alkaen (IgM, 50,0 %; IgG, 87,5 %). Huomionarvoista on, että kurkunpyyhkäisynäytteiden positiivinen osuus oli vain 13,0 % myöhemmässä vaiheessa (≥15 d.a.o.), ja IgM:n ja IgG:n herkkyys nousi 52,2 %:iin ja 91,3 %:iin. Vasta-ainemäärityksen ja qRT-PCR:n samanaikaisella yhdistetyllä käytöllä pystyttiin parantamaan patogeenidiagnoosin herkkyyttä erityisesti kurkunpyyhkäisynäytteiden ryhmässä sairauden myöhemmässä vaiheessa. Lisäksi useimmat näistä tapauksista, joissa viruksen RNA:ta ei voitu havaita kurkunpyyhkäisynäytteissä sairauden alkuvaiheessa, olivat IgM/IgG-seropositiivisia 7 päivän kuluttua. SARS-CoV-2:n vasta-aineiden osoittaminen tarjoaa lääkäreille elintärkeää kliinistä tietoa, ja sitä voitaisiin käyttää tehokkaana lisäindikaattorina. CC-BY-NC-ND 4.0 Kansainvälinen lisenssi Se asetetaan saataville lisenssillä on tekijä/rahoittaja, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen ikuisesti. (jota ei ole vertaisarvioitu) Tämän esipainoksen tekijänoikeuden haltija .

**Tulos**

Arviointi vasta-ainemääritysten diagnostisesta lisäarvosta uuden koronaviruksen (SARS-Cov-2) havaitsemiseksi.

**Esimerkki 1.195**

Sprague-Dawley-rotille ruiskutettiin vatsansisäisesti Trypanosoma brucei brucei -suspensiota. Päähistokompatibiliteettikompleksin (MHC) luokan I antigeenien varhainen induktio sekä makrofagien kaltaisten solujen ja sytotoksisten T-solujen infiltraatio havaittiin immunohistokemiallisin menetelmin circumventrikulaarisissa elimissä, kuten keskimmäisessä eminenssissä, neurohypofyysissä, subfornikaalisessa elimessä, käpyrauhasessa ja postrema-alueella. Nämä alueet, joilla ei ole veri-aivoestettä, vastaavat alueita, joilla trypanosomien varhainen invaasio on havaittavissa. Lisäksi MHC-luokka I indusoitui selvästi kahden hypotalamuksen ytimen, paraventrikulaarisen ja supraoptisen ytimen, neuroneissa. Näiden kahden ytimen neuronit sijaitsevat veri-aivoesteen takana, mutta ne suuntautuvat neurohypofyysiin ja mediaani-eminenssiin, jolloin niiden aksoniterminaalit altistuvat veressä kiertäville tekijöille tai paikallisesti tunkeutuvista trypanosomeista tai makrofageista tai sytotoksisista T-soluista vapautuville tekijöille. On oletettavaa, että hypotalamuksen ytimien hermosolurunkojen muutokset johtuvat retrogradista aksonisignaalista näiltä kohdealueilta.

**Tulos**

Varhainen suuren histokompatibiliteettikompleksin (MHC) luokan I antigeenin induktio hypotalamuksen supraoptisissa ja paraventrikulaarisissa ytimissä trypanosomilla infektoituneilla rotilla.

**Esimerkki 1.196**

Tavoitteet. Arvioida, miten ihmiset kokevat koronavirusinfektion riskit, ryhtyvätkö ihmiset ennaltaehkäiseviin toimenpiteisiin ja mitkä tekijät (ennen taudin puhkeamista) vaikuttavat koettuihin riskeihin ja toteutettuihin toimenpiteisiin, kuten (ennen taudin puhkeamista) hengitystieongelmat, sydänongelmat, diabetes, ahdistuneisuus- ja masennusoireet, yksinäisyys, ikä, sukupuoli, siviilisääty ja koulutustaso. Menetelmät. Tiedot kerättiin Alankomaiden väestöstä poimitusta satunnaisotoksesta koostuvasta pitkittäispaneelista (LISS). Koronavirustutkimus alkoi 2. maaliskuuta, ja tiedonkeruu päättyi 17. maaliskuuta 2020. Tiedot yhdistettiin vuoden 2019 lopussa tehtyihin terveyttä ja sosiaalista integraatiota koskeviin kyselyihin (N-tutkimusotos =3 540). Tulokset. Noin 15 % koki tartuntariskin korkeaksi ja 11 % riskin sairastua tartunnan saatuaan. Monimuuttujaiset logistiset regressioanalyysit osoittivat seuraavaa. Vanhemmat ikäryhmät kokivat koronavirusinfektion riskin pienemmäksi (kaikki oikaistut odd-suhteet [aOR] ≤ .058). Kaikkiaan 43,8 prosenttia oli ryhtynyt ennaltaehkäiseviin toimenpiteisiin, erityisesti naiset (aOR=1,47, 95 % CI=1,27-1,69). Alemman koulutustason omaavat käyttivät harvemmin ehkäiseviä toimenpiteitä (aOR=0,56, 95 % CI=0,46-0,69). Ne, joilla oli ennen taudin puhkeamista hengitystieongelmia (aOR=2,89, 95 % CI=2,24-3,73), sydänongelmia (aOR=2,17, 95 % CI=1,49-3,16) ja diabetesta (aOR=3,10, 95 % CI=2,02-4,74), kokivat sairastumisriskin muita suuremmaksi tartunnan saatuaan. Vastaajat, joilla oli ennen tautitapausta hengitystieongelmia ja joilla oli diabetes, eivät kuitenkaan useammin ryhtyneet ehkäiseviin toimenpiteisiin. Haavoittuvassa asemassa olevat potilaat tunnistavat useammin, että heillä on riski sairastua koronavirustartunnan saaneena, mutta monet eivät ryhdy ennaltaehkäiseviin toimenpiteisiin. Ennaltaehkäisevien toimenpiteiden käyttöä edistävissä toimissa olisi kiinnitettävä enemmän huomiota fyysisesti haavoittuviin potilaisiin, miehiin ja alhaisemman koulutustason omaaviin potilaisiin.

**Tulos**

Ennen taudinpurkausta havaittujen corona-infektioriskien ja toteutettujen ehkäisevien toimenpiteiden määrittävät tekijät. Prospektiivinen väestöpohjainen tutkimus Koetut riskit ja ennaltaehkäisevät toimenpiteet Corona-taudin puhkeaminen.

**Esimerkki 1.197**

Kymmenen vertailugeeniä tutkittiin munivien kanojen kuorirauhasen geeniekspressiotietojen normalisoimiseksi. GeNormilla tehdyt analyysit osoittivat, että hypoksantiini-fosforibosyylitransferaasi 1 (HPRT1) ja hydroksimetyylibilaanisyntaasi (HMBS) olivat kaksi stabiilimpaa referenssigeeniä vastauksena munivien kanojen pelkkään (POT) tai nikarbatsiinikäsittelyn (POT+N) jälkeiseen muninta-aikaan. NormFinder-analyysit osoittivat, että kaksi stabiilimpaa referenssigeeniä vasteena POT:lle ja POT+N:lle olivat 18S ribosomaalinen RNA (18S rRNA), ribosomaalinen proteiini L4 (RPL4) ja HMBS, RPL4, vastaavasti. BestKeeper-analyysit osoittivat, että 18S rRNA, RPL4 ja HPRT1, HMBS olivat kaksi stabiilimpaa referenssigeeniä POT:lle ja POT+N:lle. Kymmenestä referenssigeenistä kaikilla muilla paitsi B2M:llä oli geNorm M <0,5, mikä viittaa siihen, että ne ilmentyivät vakaasti kuorirauhaskudoksessa. Näiden kolmen ohjelman konsensus ehdotti, että HPRT1:tä ja HMBS:ää voitaisiin käyttää kahtena stabiilimpana vertailugeeninä tässä tutkimuksessa. Neljän kohdegeeniehdokkaan ekspressioanalyysit kahden stabiilimman ja kahden vähiten stabiilin geenin kanssa osoittivat, että stabiilien referenssigeenien yhdistelmä johtaa kohdegeenien ekspressiotasojen erottelevampaan kvantifiointiin, kun taas vähiten stabiilit geenit eivät tehneet niin. Näin ollen HMBS:ää ja HPRT1:tä suositellaan kahdeksi stabiilimmaksi referenssigeeniksi geeniekspressiotietojen normalisoimiseksi ruskean munan munivien kanojen munankuoren muodostumisen eri vaiheissa. Vertailugeenien luokittelua varten käytettävissä olevien tilasto-ohjelmien olisi sisällettävä vankemmat analyysivalmiudet, jotta voidaan analysoida faktorisuunnittelukokeista tuotettuja geeniekspressiotietoja. Viittaus: Samiullah S, Roberts J, Wu S-B (2017) Munivien kanojen kuorirauhasen referenssigeenien valinta vasteena munankuoren muodostumisen aikapisteisiin ja nikarbatsiiniin. PLoS ONE 12(7): e0180432. https://doi.org/10.

**Tulos**

Munivien kanojen kuorirauhasen referenssigeenien valinta munankuoren muodostumisen ajankohdan ja nikarbatsiinin perusteella.

**Esimerkki 1.198**

Koiran penikkatauti (CDV) aiheuttaa koirille vakavan ja erittäin tarttuvan taudin. CDV:hen liittyvän taudin arvaamaton ja vaihteleva kulku voi vaikeuttaa tartunnan oikeaa diagnosointia, ja sen vuoksi on ratkaisevan tärkeää kerätä laboratoriovahvistukseen soveltuvia näytteitä. Tässä tutkimuksessa pystyimme seuraamaan taudin kulkua kahdella luonnollisesti tartunnan saaneella koiralla keräämällä erilaisia biologisia matriiseja koko tartunnan ajan. Reaaliaikaisella RT-PCR:llä havaittiin ja kvantifioitiin viruksen RNA, mikä viittaa siihen, että virtsa- ja peräsuolen pyyhkäisynäytteet olisivat hyödyllisiä ante mortem -diagnostiikassa koirien penikkataudin diagnosoimiseksi sairauden kliinisestä vaiheesta ja muodosta riippumatta.

**Tulos**

Virologiset ja serologiset löydökset koirilla, joilla on luonnostaan esiintyvä virtsarutto.

**Esimerkki 1.199**

Useimmat akuuttia hengitysvaikeusoireyhtymää (ARDS) koskevat epidemiologiset tutkimukset on tehty länsimaissa, ja Aasiassa tehtyjä tutkimuksia on vähän. Tutkimuksemme tavoitteena oli arvioida ARDS:n esiintyvyyttä, sairaalakuolleisuutta ja yhden vuoden kuolleisuutta Taiwanissa. Teimme Taiwanin kansalliseen sairausvakuutustutkimustietokantaan perustuvan valtakunnallisen sairaalahoitokohorttitutkimuksen vuosina 1997-2011. Yhteensä 40 876 ARDS-potilasta (68 % miehiä; keski-ikä 66 vuotta) tunnistettiin kansainvälisen tautiluokituksen 9. painoksen koodauksen avulla ja analysoitiin edelleen kliinisten ominaisuuksien, sairauskustannusten ja kuolleisuuden osalta. ARDS:n yleinen karkea ilmaantuvuus oli 15,74/100 000 henkilötyövuotta, ja se kasvoi 2,53:sta 19,26:een/100 000 henkilötyövuotta tutkimusjakson aikana. Ikäkorjattu ARDS:n ilmaantuvuus oli 15,19 tapausta 100 000 henkilötyövuotta kohti. Yleinen sairaalakuolleisuus oli 57,8 prosenttia. Sairaalakuolleisuus väheni 59,7 prosentista vuonna 1997 47,5 prosenttiin vuonna 2011 (P < 0,001). Sairaalakuolleisuus oli alhaisin (33,5 %) nuorimmilla potilailla (18-29-vuotiaat) ja korkein (68,2 %) vanhimmilla potilailla (>80-vuotiaat, P < 0,001). Yhden vuoden kokonaiskuolleisuus oli 72,1 %, ja se laski 75,8 %:sta 54,7 %:iin tutkimusjakson aikana. Sairaalahoidon aikana kuolleet potilaat olivat vanhempia (69 AE 17 vs. 62 AE 19, P < 0,001) ja pääasiassa miehiä (69,8 % vs. 65,3 %, P < 0,001). Lisäksi sairaalahoidon aikana kuolleilla potilailla oli merkittävästi korkeammat hoitokustannukset (6421 vs. 5825 Yhdysvaltain dollaria, P < 0,001) ja lyhyempi hoitoaika (13 vs. 19 päivää, P < 0,001) kuin eloonjääneillä potilailla. Esitämme ensimmäisen laajamittaisen epidemiologisen analyysin ARDS:n esiintyvyydestä ja tuloksista Aasiassa. Vaikka kokonaisesiintyvyys oli alhaisempi kuin yhdysvaltalaisessa prospektiivisessa tutkimuksessa on raportoitu, tämä saattaa johtua alidiagnostiikasta kansainvälisen tautiluokituksen 9. painoksen koodin mukaan ja siitä, että tässä analyysissä tunnistettiin vain potilaat, joilla oli vaikeampi ARDS. Kaiken kaikkiaan sairaalakuolleisuus ja yhden vuoden kuolleisuus ovat viime vuosina vähentyneet, mikä johtuu todennäköisesti keuhkoja suojaavan ventilaation käyttöönotosta. (Medicine 94(43):e1849) Lyhenteet: ARDS = akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä, ICD-9 = kansainvälinen tautiluokitus, 9. painos, ICU = teho-osasto. Toimittaja: Levent Dalar. KUVIO 3. ARDS:n sairaalakuolleisuus Taiwanissa. (A) ARDS:n sairaalakuolleisuus tutkimusjaksolla 1997-2011; (B) ARDS:n ikäkohtainen sairaalakuolleisuus. Siniset timantit: miehet; punaiset neliöt: naiset; vihreät kolmiot: koko väestö. KUVIO 4. ARDS:n yhden vuoden kuolleisuus vuosina 1997-2011 Taiwanissa. Siniset timantit: miehet; punaiset neliöt: naiset; vihreät kolmiot: koko väestö.

**Tulos**

Akuutin hengitysvaikeusoireyhtymän ilmaantuvuus ja tulokset Valtakunnallinen rekisteripohjainen tutkimus Taiwanissa vuosina 1997-2011.

**Esimerkki 1.200**

Rokotustutkimuksen alkuperäisenä tieteellisenä strategiana on historiallisesti ollut "eristäminen, inaktivointi ja injektointi", johon Louis Pasteur viittasi ensimmäisenä. Yhdistelmä-DNA ja nanoteknologia laajensivat rokotteiden valikoimaa huomattavasti, ja nykyään se perustuu kolmeen mukautettuun periaatteeseen, jotka ovat heikentäminen, inaktivointi ja rekombinaatio, kuten kuvassa 9 .1 esitetään. Näitä kolmea periaatetta pidetään tasavertaisina, ja kaikki kokeelliset mahdollisuudet uuden rokotteen kehittämiseksi taudinaiheuttajaa vastaan olisi tutkittava yksityiskohtaisesti. Rekombinantti-DNA ja nanoteknologia eivät muuttaneet tieteellistä perusstrategiaa: eläviä ja ei-eläviä rokotteita. Elävät rokotteet ovat adjuvantoimattomia, ja ei-elävät rokotteet ovat yleensä adjuvantoituja. Tuberkuloosin (tuberkuloosi) vastaiset uudet kehitystoimet korostavat tätä laajaa kokeellista lähestymistapaa: Nykyään arvioidaan, että noin kolmasosa maailman väestöstä on saanut tuberkuloosibasillin tartunnan. Noin 54 miljoonaa ihmistä saa tartunnan vuosittain, 9,4 miljoonaa sairastuu ja 1,7 miljoonaa kuolee tähän parannettavissa olevaan tautiin. Tuberkuloosibakteeri tappaa enemmän ihmisiä kuin mikään muu tartunnanaiheuttaja yksinään. Tällä hetkellä BCG (Bacillus Calmette-Guérin) on ainoa WHO:n suosittelema rokote, jota on annettu yli kolme miljardia annosta sen käyttöönoton jälkeen vuonna 1921. BCG-rokote valmistetaan heikennetystä elävästä naudan tuberkuloosibasillin Mycobacterium bovis -kannasta, joka on menettänyt virulenssinsa ihmisessä, kun sitä on kasvatettu erityisellä tavalla keinotekoisessa elatusaineessa. Vaikka se suojaa vastasyntyneitä ja lapsia tuberkuloosin vakavilta muodoilta, sen teho nuorten ja aikuisten keuhkotuberkuloosia vastaan ei ole läheskään optimaalinen, sillä suojausaste vaihtelee maantieteellisestä alueesta riippuen 0-80 prosentin välillä. Sisällysluettelo Elävät ja ei-elävät rokotteet

**Tulos**

Rekombinanttirokotteiden tyypit 9.1 Elävät ja ei-elävät rokotteet

**Esimerkki 1.201**

Taustaa: Kroonisen keuhkoputkentulehduksen akuutti pahenemisvaihe on yleinen sairaus, johon liittyy huomattavia kustannuksia ja sairastuvuutta. Tutkimuksessa on keskitytty innovaatioihin, joilla voidaan vähentää AECB:hen liittyvää sairastuvuutta. Terveydenhuollon maksajat odottavat yhä useammin, että näyttöön perustuvien taloudellisten arviointien tulokset ohjaavat lääkäreitä valitsemaan kustannustehokkaita toimenpiteitä. Tavoitteet: Esitämme lyhyen kliinisen katsauksen AECB:stä ja sen jälkeen arvion saatavilla olevista tiedoista, jotka koskevat tämän taudin taloudellisia vaikutuksia. Sen jälkeen käsittelemme useita AECB:hen liittyviä kysymyksiä, jotka on otettava huomioon AECB:n mikrobilääkkeisiin liittyvien toimenpiteiden kustannustehokkuusanalyyseissä. Menetelmät: AECB:n kliinisiä ja taloudellisia vaikutuksia koskevaa julkaistua kirjallisuutta etsittiin MEDLINE@-, pre-MEDLllNE@-, HealthSTAR-, ClNAHL-, Current Contents/All Editions-, EMBASE- ja International Pharmaceutical Abstracts -tietokantojen avulla. Muut mahdolliset lähteet tunnistettiin etsimällä viitteitä haetuista artikkeleista, katsausartikkeleista, konsensuslausunnoista ja valittujen viranomaisten kirjoittamista artikkeleista. Tulokset: AECB:n mikrobilääkehoidon kustannusvaikuttavuusanalyysejä arvioitaessa on ratkaisevan tärkeää 1) käyttää taudista vapaata aikaa lopputuloksen mittarina, 2) arvioida useiden hoitojen järjestystä, 3) ottaa huomioon sekä nykyisen että tulevan antibioottiresistenssin vaikutus ja 4) mitata kaikki asianmukaiset AECB:hen liittyvät sekä suorat että epäsuorat kustannukset. Näiden lähestymistapojen sisällyttäminen AECB:n mikrobilääkehoidon taloudellisiin analyyseihin voi auttaa terveydenhuollon organisaatioita tekemään näyttöön perustuvia päätöksiä AECB:n kustannustehokkaasta hoidosta.

**Tulos**

Kroonisen keuhkoputkentulehduksen akuutti paheneminen: Mikrobilääkehoidon kustannustehokkuuteen vaikuttavat tautikohtaiset seikat.

**Esimerkki 1.202**

Vesikkelivälitteinen kuljetus on prosessi, jota lähes kaikki solut suorittavat ja jota tarvitaan proteiinien asianmukaiseen kohdentamiseen ja erittymiseen. Proteiinien asianmukaisen lokalisoitumisen varmistamiseen osallistuu lukuisia toimijoita. Kaiken kaikkiaan kuljetus edellyttää vesikkelin nuppuuntumista, vesikkelin tunnistamista kohdekalvolla ja vesikkelin fuusioitumista kohdekalvoon, mikä johtaa sen sisällön kulkeutumiseen. Vesikkelin ja kohdekalvon välistä vuorovaikutusta on kutsuttu kiinnittymiseksi. Koska tämä on ensimmäinen kosketus kahden kalvon välillä, kiinnittyminen on kriittinen tekijä spesifisyyden saavuttamisen varmistamiseksi. Siksi ei ole yllättävää, että mukana on lukuisia "kiinnitystekijöitä", kuten monialayksikkökomplekseja, kierteisiä proteiineja ja Rab-guanosiinitrifosfataaseja. Moniyksikköisistä kiinnityskomplekseista yksi molekyylitasolla parhaiten tutkituista on evolutiivisesti konservoitunut TRAPP-kompleksi. Tästä kompleksista on kaksi muotoa: TRAPP I ja TRAPP II. Hiivassa nämä kompleksit toimivat useissa prosesseissa, kuten endoplasmaverkostosta Golgiin tapahtuvassa kuljetuksessa (TRAPP I) ja eräässä epämääräisessä vaiheessa trans-Golgissa (TRAPP II). Koska kompleksista raportoitiin ensimmäisen kerran vuonna 1998 (1), on tehty vuosikymmenen ajan tutkimuksia, jotka ovat selventäneet joitakin sen toiminnan näkökohtia mutta myös herättäneet uusia kysymyksiä. Tässä katsauksessa käsittelemme viimeaikaisia edistysaskeleita hiivan ja nisäkkäiden TRAPP:n ymmärtämisessä rakenteellisella ja toiminnallisella tasolla sekä sen roolia sairauksissa ja pyrimme samalla ratkaisemaan joitakin ilmeisiä ristiriitaisuuksia ja korostamaan tulevan tutkimuksen alueita.

**Tulos**

TRAPP-kompleksi: näkemyksiä sen arkkitehtuurista ja toiminnasta NIH Public Access Author Manuscript (Käsikirjoitus)

**Esimerkki 1.203**

Hiv/aids on aiheuttanut tuhoa maailmassa yli 30 vuoden ajan. Koska HIV:tä vastaan ei ole olemassa tehokasta rokotetta, uusien HIV:n vastaisten aineiden kehittäminen on kiireellistä. Tunnistimme aiemmin skorpionin myrkkyä sisältävän mucroporin-M1:n antiviraaliset vaikutukset kolmeen RNA-virukseen (tuhkarokkovirukset, SARS-CoV ja H5N1). Tässä tutkimuksessa suunniteltiin ja valittiin joukko skorpionimyrkkypeptidejä ja niiden johdannaisia niiden HIV-vastaisten vaikutusten arvioimiseksi. Uusi skorpionimyrkkyjen peptidijohdannainen Kn2-7 tunnistettiin seulontamäärityksissä tehokkaimmaksi HIV-1:n vastaiseksi peptidiksi, jonka EC 50 -arvo oli 2,76 mg/ml (1,65 mM), ja se osoitti matalaa sytotoksisuutta isäntäsoluille, kun selektiivinen indeksi (SI) oli 13,93. Kn2-7 pystyi estämään kaikkia HIV-1:n B-alatyypin pseudotyyppisen viruksen (PV) vakioreferenssipaneelin jäseniä CCR5-trooppisen ja CXCR4-trooppisen NL4-3 PV-kannan kanssa. Lisäksi se esti myös CXCR4-trooppisen B-alatyypin HIV-1-viruksen replikaatiokompetentin kannan. Kn2-7:n sitoutuminen HIV-1 PV:hen Octet Red -järjestelmällä osoitti, että HIV-1:n vastainen aktiivisuus korreloi Kn2-7:n ja HIV-1:n kuoren väliseen suoraan vuorovaikutukseen. Nämä tulokset osoittivat, että peptidi Kn2-7 voi estää HIV-1:n toimintaa suorassa vuorovaikutuksessa viruspartikkelin kanssa, ja siitä voi tulla lupaava yhdiste-ehdokas HIV-1:n vastaisten mikrobilääkkeiden kehittämiseksi edelleen.

**Tulos**

Uuden skorpionimyrkkyjen peptidijohdannaisen Kn2-7 anti-HIV-1-aktiivisuus

**Esimerkki 1.204**

keuhkonsiirto, ja sen uskotaan edustavan kroonista hyljintää. Akuutin faasin proteiinin, Pentraxin 3:n (PTX3), lisääntynyt ilmentyminen oli yhteydessä keuhkonsiirtopotilaiden huonompaan lopputulokseen. Määrittääksemme vastaanottajan PTX3:n roolin kroonisen hyljinnän kehittymisessä käytimme pienen alloantigeenin kanssa yhteensopivaa hiiren ortotopista yhden keuhkon siirtomallia. Luovuttajina käytettiin urospuolisia C57BL/10-hiiriä. Vastaanottajina käytettiin urospuolisia PTX3:n tyrmäyshiiriä (KO) ja niiden villityyppisiä (WT) sukulaisia 129/SvEv/C57BL6/J-taustalla. KO-vastaanottajilla 7/13 siirteen saaneista keuhkoista konsolidoitui ilman tilavuuden palautumista TT-kuvauksessa, kun taas vain 2/9 WT-hiirellä oli samanlainen siirteen konsolidoituminen. Niissä siirteissä, joissa keuhkojen tilavuus voitiin luotettavasti analysoida tietokonetomografialla, keuhkojen tilavuuden palautuminen oli KO-hiirillä huomattavasti vähäisempää kuin WT-hiirillä. Interstitiaalinen tulehdus, parenkyymifibroosi ja bronchiolitis obliterans -pisteet olivat merkittävästi korkeammat KO-hiirillä. Myofibroblastien ja lymfaattisten aggregaatioiden esiintyminen oli merkittävästi lisääntynyt PTX3 KO-vastaanottajien siirteissä. Vastaanottajan PTX3-puutos lisäsi kroonisen hyljinnän kaltaisia vaurioita edistämällä fibroottista prosessia hengitysteissä ja keuhkoparenkyymissä. Taustamekanismeja ja eksogeenisen PTX3:n mahdollista suojaavaa roolia hoitona olisi tutkittava tarkemmin.

**Tulos**

Pentraksiini 3:n puutos lisää kroonisen hyljinnän piirteitä hiiren ortotopisessa keuhkonsiirtomallissa.

**Esimerkki 1.205**

SARS-CoV-2:n aiheuttaman uuden koronaviruspandemian nykyinen puhkeaminen edellyttää uusien hoitostrategioiden kehittämistä kuolleisuuden nopean lisääntymisen estämiseksi. Koronaviruksen piikkiproteiini (S-proteiini), joka helpottaa viruksen kiinnittymistä, pääsyä ja kalvofuusiota, on voimakkaasti glykosyloitunut, ja sillä on ratkaiseva rooli isännän immuunivasteen herättämisessä. Spike-proteiini koostuu kahdesta proteiinin alayksiköstä (S1 ja S2), joilla on yhdessä 22 mahdollista N-glykosylaatiokohtaa. Tässä raportoidaan ihmisen soluissa ilmentyneiden spike-proteiinin alayksiköiden S1 ja S2 glykosylaatiokartoitus korkean resoluution massaspektrometrian avulla. Olemme luonnehtineet kvantitatiivisen N-glykosylaatioprofiilin piikkiproteiinissa ja mielenkiintoisesti havaitsimme odottamattomia O-glykosylaatiomodifikaatioita piikkiproteiinin alayksikön S1 reseptoria sitovalla domeenilla (RBD). Vaikka O-glykosylaatio on ennustettu SARS-CoV-2:n piikkiproteiinissa, tämä on ensimmäinen raportti kokeellisista tiedoista, jotka koskevat sekä O-glykosylaatiokohtaa että S1-alayksikköön kiinnittyneiden O-glykaanien identiteettiä. N- ja O-glykosylaatiota koskevia tietojamme vahvistaa kunkin glykopeptidispektrin laaja manuaalinen tulkinta sekä bioinformatiikan välineiden käyttö, jolla vahvistetaan glykosylaation monimutkaisuus piikkiproteiinissa. Piikkiproteiinin glykaanirepertuaarin selvittäminen antaa tietoa viruksen sitoutumistutkimuksista ja, mikä tärkeämpää, edistää tutkimusta kohti sopivan rokotekandidaatin kehittämistä. author/funder. Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ilman lupaa kielletty.

**Tulos**

Uuden koronaviruksen SARS-CoV-2:n piikkiproteiinin N- ja O-glykosylaatioprofiilin päättely.

**Esimerkki 1.206**

Tryptofaanirikkaalla oktapeptidillä C8 (Ac-Trp-Glu-Asp-Trp-Val-Gly-Trp-Ile-NH 2 ), joka on mallinnettu kissan immuunikatoviruksen (FIV) gp36-glykoproteiinin ektodomeenin kalvopreksimaalisesta ulkoisesta alueesta, on voimakas antiviraalinen aktiivisuus FIV:tä vastaan. On ehdotettu mekanismia, jonka mukaan solukalvon pinnalla sijaitseva peptidi estää sen fuusioitumisen viruksen kanssa. Tässä työssä tutkitaan C8:n peptidi-lipidien vuorovaikutuksia dimyristoyylifosfatidyylikoliiniliposomien kanssa käyttämällä spin-leimattujen lipidien elektronispinoresonanssispektroskopiaa. Lisäksi on tutkittu kolmea muuta C8:n modifioinneista saatua peptidiä, jotta voitaisiin selvittää tryptofaanijäämien vuorovaikutusten olennaiset molekyylipiirteet. Tulokset osoittavat, että C8 adsorboituu voimakkaasti kaksoiskerroksen pinnalle. Kalvoon sitoutuminen edellyttää paitsi Trp-jäännösten läsnäoloa sekvenssissä, myös niiden yhteistä suuntautumista peptidin toiselle puolelle, joka syntyy WX 2 WX 2 W-motiivin avulla. Kalvovuorovaikutus korreloi läheisesti peptidin antiviraalisen aktiivisuuden kanssa, mikä osoittaa, että kalvo on olennainen tekijä sellaisen peptidikonformaation vakauttamisessa, joka pystyy estämään virusinfektion.

**Tulos**

Kissan immunodeWciency-viruksen gp36-glykoproteiinista peräisin olevien lyhyiden modifioitujen peptidien vuorovaikutus fosfolipidikalvojen kanssa.

**Esimerkki 1.207**

Coronaviridae-heimoon kuuluva sikojen epidemiaripulivirus (PEDV) aiheuttaa sioille akuuttia ripulia ja kuivumista. Vaikka se tunnistettiin ensin Euroopassa, siitä on tullut yhä suurempi ongelma monissa Aasian maissa, kuten Koreassa, Kiinassa, Japanissa, Filippiineillä ja Thaimaassa. PEDV:n taloudelliset vaikutukset ovat huomattavat, koska se aiheuttaa vastasyntyneiden porsaiden merkittävää sairastuvuutta ja kuolleisuutta ja koska siihen liittyy rokotus- ja desinfiointikustannusten lisääntyminen. Viime aikoina on edistytty PEDV:n molekyyliepidemiologian ymmärtämisessä, mikä on johtanut uusien rokotteiden kehittämiseen. Tässä katsauksessa kuvataan ensin PEDV:n molekulaariset ja geneettiset ominaisuudet. Sen jälkeen käsittelemme sen molekyyliepidemiologiaa ja diagnoosia, saatavilla olevia rokotteita ja sitä, miten PEDV:tä voidaan hoitaa.

**Tulos**

Sian epidemiaripulivirus: kattava katsaus molekyyliepidemiologiaan, diagnoosiin ja rokotteisiin.

**Esimerkki 1.208**

Yleisesti ollaan yhtä mieltä siitä, että tehokkaaseen katastrofien hallintaan liittyy rajoitteita, jotka liittyvät tiedon jakamiseen ja reaaliaikaisten tutkimusreaktioiden tarpeeseen. Äärimmäisiä esimerkkejä katastrofeista, jotka ovat erityisen alttiita näille haasteille, ovat maailmanlaajuiset pandemiat tai taudinpurkaukset, joissa tutkimukseen vastaamiseen tarvittava tieto on saatavilla vasta taudinpurkauksen alkamisen jälkeen. Tässä asiakirjassa esitetään, että kehittyvä probabilistinen innovointi (innovointi, joka lisää yhteiskunnallisten ongelmien ratkaisemisen todennäköisyyttä lisäämällä radikaalisti ongelmanratkaisuun käytettävien panosten ja analyysien määrän koordinointia) ja sen menetelmät, kuten joukkoistettuun tutkimukseen ja kehitykseen ja sosiaaliseen mediaan perustuvat menetelmät, voivat tarjota hyödyllistä tietoa reaaliaikaisen tutkimuskapasiteetin mahdollistamisesta, millä on merkittäviä vaikutuksia katastrofien ja kriisien hallintaan. Katastrofitutkimuksen kolme paradigmaa erotetaan toisistaan, kun kirjallisuutta suhteutetaan postnormaalin tieteen, Kuhnin "normaalitieteen" ja Lakatosin "rakennetieteen" tarjoamiin teorioihin ja tavoitteeseen saavuttaa reaaliaikainen tutkimusongelmien ratkaisukyky katastrofikriisitilanteissa. Maailmanlaajuiset yhteistoiminnalliset innovaatioalustat ja laajamittaiset investoinnit kehittyvään joukkoistettuun tutkimus- ja kehitystyöhön ja sosiaalisen median teknologioihin yhdessä asianmukaisen teorian synteesin kanssa voivat parantaa reaaliaikaista katastrofivalmiutta ja sietokykyä eri yhteyksissä, erityisesti tapauksissa, joissa valmiuksien hallintaan tarvittava tieto on saatavilla vasta katastrofien tapahtumisen jälkeen.

**Tulos**

Katastrofien hallinta, joukkoistettu T&K ja todennäköisyysperusteinen innovaatioteoria: Kohti reaaliaikaisia katastrofivalmiuksia

**Esimerkki 1.209**

Rekombinanttiproteiinit on perinteisesti rajoitettu lineaariseen kokoonpanoon. Tässä raportoimme in vivo -proteiinien topologian suunnittelusta käyttäen erittäin tehokkaita, mekaanisesti toisiinsa kytkeytyviä SpyX-moduuleja nimeltä AXB ja BXA. SpyX-moduulit ovat proteiinidomeeneja, jotka koostuvat p53dimistä (X), SpyTagista (A) ja SpyCatcherista (B). P53dim ohjaa kahden syntyvän proteiiniketjun kietoutumista toisiinsa, minkä jälkeen SpyTagin ja SpyCatcherin välille muodostuu autokatalyyttinen isopeptidisidos, joka toteuttaa kietoutumisen, mikä johtaa erilaisiin selkärangan topologioihin. AXB:n tai BXA:n suora ekspressio tuottaa proteiinikatenaaneja, joilla on erilaiset rengaskoot. SpyX-moduuleja sisältäviä rekombinanttiproteiineja saadaan joko mekaanisesti toisiinsa lukittuneina pakollisina dimeereinä, jos kiinnostava proteiini on fuusioitu SpyX-moduulien N- tai C-terminaaleihin, tai tähtiproteiineina, jos proteiini on fuusioitu sekä N- että C-terminaaleihin. Esimerkkeinä osoitettiin (GB1) 2 -dimeerien (GB1 tarkoittaa streptokokin proteiini G:n immunoglobuliinia sitovaa domeenia B1) ja nelihaaraisen elastiinin kaltaisten tähtiproteiinien solusynteesit. Eri konstruktioiden katenaatiotehokkuuden vertailu osoittaa, että BXA on yleensä paljon tehokkaampi kuin AXB, mikä on perusteltua kolmen domeenin tilajärjestyksen vuoksi. Mekaaninen lukittuminen aiheuttaa huomattavaa stabiilisuuden parantumista. Sekä AXB:n että BXA:n sulamispiste on ∼20 °C korkeampi kuin lineaarisilla kontrolleilla, ja BXA-katenaanin sulamispiste on ~2 °C korkeampi kuin syklisen kontrollin BX'A. Nelihaaraiset elastiinin kaltaiset tähtiproteiinit osoittavat huomattavaa sietokykyä trypsiinin pilkkoutumista vastaan. SpyX-moduulit tarjoavat kätevän ja monipuolisen lähestymistavan epätavanomaisten proteiinitopologioiden rakentamiseen "kokoonpano-reaktio"-synergian avulla, mikä avaa uuden näköalan proteiinitieteessä stabiilisuuden lisäämiseksi ja toiminnan vahvistamiseksi topologian suunnittelun avulla.

**Tulos**

Proteiinien topologian muokkaus in vivo käyttämällä geneettisesti koodattuja, mekaanisesti toisiinsa kytkeytyviä SpyX-moduuleja stabiiliuden parantamiseksi.

**Esimerkki 1.210**

Vuonna 2003 Etelä-Koreassa puhjenneen vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) ja vuonna 2015 puhjenneen Lähi-idän hengitystieoireyhtymän (MERS) jälkeen tässä tutkimuksessa pyritään tutkimaan ja selvittämään tekijöitä, jotka vaikuttavat tarttuviin tauteihin reagoimiseen, joka kattaa sekä tartuntataudit että tarttumattomat taudit. Kvalitatiivisen tutkimusmenetelmän avulla tässä tutkimuksessa tekijät luokitellaan panoksiksi, prosesseiksi ja tuotoksiksi, ja niitä sovelletaan Etelä-Korean vuoden 2003 SARS- ja MERS-epidemiaan. Tulokset osoittavat, että lainsäädännöllisellä tekijällä oli suora ja epäsuora vaikutus tartuntatautien torjunnan kokonaisprosessiin ja että keskushallinnon johtajuus, hallitustenvälisen torjuntajärjestelmän perustaminen, viestinnän tarve, tietojen jakaminen ja luovuttaminen sekä paikan päällä tapahtuva torjunta todettiin avaintekijöiksi, jotka vaikuttavat tehokkaaseen tartuntatautien torjuntaan. MPSS:lle aiemmin kuuluneet tehtävät. Despite the persisting limitations in disaster response and management, studies related to disaster response continued to discuss the need to achieve the common goal of effective disaster management within a network with participation from regional government, central government, private organizations, citizen's groups and military units based on independence and autonomy [1] [2] [3] [4] [5] [6] [7] [8] [9] [10] [11] . Lisäksi muissa tutkimuksissa hahmotettiin katastrofien hallintaan ja niihin reagoimiseen vaikuttavia tekijöitä makroskooppisesta näkökulmasta ja analysoitiin katastrofien hallintaa ja niihin reagoimista tietoisuustutkimusten avulla [8, [12] [13] [14] . Keskustelu katastrofien sietokyvystä on lisääntynyt viime vuosina. Termi "resilienssi" viittaa käsitteeseen, joka osoittaa ekosysteemin ominaisuuksia järjestelmänä, josta on tullut yhteiskuntatieteellinen käsite [15] ja jota sovelletaan katastrofien hallinnassa. Katastrofin jälkeen yhteiskuntamme tarvitsee sietokykyä palatakseen normaalitilaan katastrofin fyysisten ja sosiaalisten vaikutusten jälkeen. Tätä voidaan pitää osana katastrofinhallinnan toipumisvaihetta. Resilienssiin kuuluu fyysisen järjestelmän lisäksi myös katastrofinkestävyys organisaatiotasolla, mikä tarkoittaa kykyä tehdä yhteistyötä keskeisten resurssien koordinoinnissa menemällä yhteisön hyväksi pidemmälle ja minimoimalla toiminnalliset sekaannukset [16] . Huolimatta edellä mainituista erilaisista katastrofeihin liittyvistä tutkimuksista Koreassa ja ulkomailla, katastrofeja koskevat tutkimukset Korean kontekstissa, jossa katastrofeista käytävä keskustelu on vasta hiljattain alkanut, ovat olleet laadullisesti ja määrällisesti riittämättömiä. Tämän vuoksi nykyisten tutkimusten lisäksi tarvitaan monipuolista ja kattavaa keskustelua, joka käsittää katastrofien hallinnan resurssien tunnistamisen ja varmistamisen, tiedon jakamisen, oikea-aikaisen ja täsmällisen viestinnän ja koordinoinnin asiaankuuluvien virastojen kanssa, verkostoitumisprosessit, jotka yhdistävät katastrofien ennaltaehkäisyn ja katastrofivalmiuden katastrofien ulkopuolella, katastrofien aikaisen reagoinnin, katastrofien jälkeisen toipumisen ja katastrofikokemuksista oppimisen. Koska tässä tutkimuksessa keskityttiin kuitenkin katastrofivalmiuteen, sen keskusteluosassa ei käsitelty palautumista, johon kuuluu myös joustavuus. Lisäksi tässä tutkimuksessa keskityttiin tartuntatauteihin. Vaikka kyseessä ei ollutkaan ensimmäinen tartuntatautiepidemia Koreassa, SARS-epidemiaan (vakava akuutti hengitystieoireyhtymä) vuonna 2003 ja MERS-epidemiaan (Lähi-idän hengitystieoireyhtymä) vuonna 2015 reagoitiin täysin eri tavoin. Vuonna 2003, kun Kiinassa havaittiin SARS-nimellä tunnetun uuden infektion puhkeaminen, toteutettiin välittömiä valtakunnallisia ennaltaehkäiseviä toimenpiteitä ja orgaaninen yhteistyöjärjestelmä, johon osallistuivat keskushallinto, terveyskeskukset ja karanteeniasemat koko maassa. Lopulta noin yli 8000 ihmistä sai tartunnan maailmanlaajuisesti, myös Kiinassa, ja noin 770 ihmistä kuoli. Koreassa oli kuitenkin vain kolme vahvistettua SARS-potilasta eikä yhtään kuolemantapausta, minkä vuoksi Maailman terveysjärjestö (WHO) arvioi Korean SARSin ehkäisyn mallimaaksi. Vuoteen 2015 mennessä, yli 10 vuotta myöhemmin, Korean maine tartuntatautien torjunnassa oli kuitenkin kärsinyt järjestelmällisistä ongelmista ja katastrofien hallinnan ja viestintäkapasiteetin puuttumisesta. MERS-epidemian puhjettua kaikki kokivat tarpeelliseksi tutkia perusteellisesti kysymyksiä, jotka koskivat sitä, miten tartuntatautien torjuntajärjestelmä Koreassa oli muuttunut viimeisten 10 vuoden aikana, keskushallinnon, asiantuntijoiden ja paikan päällä toimivan johtamisjärjestelmän ja alueellisten organisaatioiden roolia sekä sitä, miten osa näistä ongelmista voitaisiin ratkaista. Huolimatta kasvavasta kiinnostuksesta ja lisätutkimuksen tarpeesta on vain vähän tutkimuksia tekijöistä, jotka määrittävät tartuntatautien torjunnan onnistumisen ja epäonnistumisen, sekä vastauksista hallinnollisiin ja poliittisiin näkökohtiin. Tämän vuoksi tässä tutkimuksessa pyrittiin järjestelmällisesti tutkimaan tekijöitä, jotka vaikuttavat katastrofivalmiuteen, keskittyen erityisesti tartuntatauteihin tutkimalla Koreassa esiintyneitä tartuntatautien puhkeamistapauksia. Tutkimuksessa pyrittiin analysoimaan tartuntatauteihin vaikuttavien tekijöiden korrelaatioita tekemällä katsaus artikkeleihin, aiempiin tutkimuksiin ja muihin julkaisuihin.

**Tulos**

Tartuntatautien torjuntaan vaikuttavat tekijät: SARS- ja MERS-tapaukset Etelä-Koreassa.

**Esimerkki 1.211**

Aiemmin tunnistettiin 1,7-bis(alkyyliamino)diatsakryseenipohjainen pieni molekyyli botuliinin neurotoksiinin serotyypin A kevyen ketjun metalloproteaasin estäjäksi. Tämän jälkeen syntetisoitiin useita tämän kemotyypin johdannaisia rakenne-aktiivisuussuhteiden kehittämiseksi, ja kaikki ovat BoNT/A LC:n estäjiä. Kolmiulotteiset analyysit osoittivat, että puolet alun perin löydetystä 1,7-DAAC-rakenteesta asettui hyvin päällekkäin 4-amino-7-kloorikinoliinipohjaisten malarialääkkeiden kanssa. Tämä havainto johti siihen, että useat 1,7-DAAC-johdannaiset ovat voimakkaita in vitro -inhibiittoreita Plasmodium falciparum -bakteerille ja yleensä tehokkaampia CQ-resistenttejä kantoja kuin CQ:lle herkkiä kantoja vastaan. Lisäksi tehokkaimmat 1,7-DAAC-pohjaiset malarialääkkeet estävät β-hematiinin muodostumista, minkä vuoksi niiden toimintamekanismi on samankaltainen kuin 4,7-ACQ-pohjaisten malarialääkkeiden, ja normaalit solut sietävät niitä hyvin. Yksi kandidaatti oli myös tehokas, kun sitä annettiin suun kautta jyrsijöihin perustuvassa malariamallissa. Lopuksi 1,7-DAAC-pohjaisia johdannaisia tutkittiin Ebola-filoviruksen estämiseksi Vero76-soluja käyttävässä testissä, ja kolme niistä osoittautui lupaaviksi viruslääkkeiksi ja niiden toksisuus oli hyväksyttävän alhainen.

**Tulos**

Kemotyyppi, joka estää kolmea toisiinsa liittymätöntä patogeenistä kohdetta: P. falciparum -malaria ja Ebola-filovirus.

**Esimerkki 1.212**

Paramyxoviruksen pääsy soluihin edellyttää virus- ja solukalvojen fuusioitumista, jota välittää yksi viruksen tärkeimmistä glykoproteiineista, fuusio-(F)-glykoproteiini, joka kalvofuusioprosessin aikana siirtyy metastabiilista pre-fuusio-konformaatiosta erittäin stabiiliin post-fuusio-rakenteeseen. F-proteiinin uudelleenfoldaus edellyttää proteiinitrimeerin suuria konformaatiomuutoksia. Yksi näistä muutoksista johtaa kahden heptadin toistosekvenssin (HRA ja HRB) kokoamiseen kustakin protomeeristä kuuden kierteisen nipun (6HB) motiiviksi. Pneumovirinae F -proteiinien ennen ja jälkeen fuusion tapahtuvien konformaatioiden erottamisen helpottamiseksi ja aiempien töiden jatkoksi suunniteltiin yleinen strategia, jolla pyritään saamaan polyklonaalisia ja erityisesti monoklonaalisia vasta-aineita, jotka ovat spesifisiä Pneumovirinae-fuusioproteiinin 6HB-motiiville. Tässä raportoitujen vasta-aineiden pitäisi auttaa karakterisoimaan rakenteellisia muutoksia, joita ihmisen metapneumoviruksen tai hengitystie-synkkytaaliviruksen F-proteiini kokee kalvofuusion aikana.

**Tulos**

Pneumovirinae-fuusioproteiinin (F) fuusion jälkeiselle konformaatiolle spesifisten monoklonaalisten vasta-aineiden tuottaminen.

**Esimerkki 1.213**

Koiran penikkatautivirus (CDV) tunkeutuu hermostoon ja lisääntyy valkean aineen neuroneissa ja gliasoluissa vakavan viruksen aiheuttaman immunosuppression aikana. Tartunnan saaneilla valkean aineen alueilla tapahtuu demyelinaatiota ilman tulehdusta. Demyelinaatiomekanismi ei ole ilmeinen, koska oligodendrosyyttien, eli myeliiniä tuottavien solujen, viruksen replikaatiosta ei ole ultrastruktuurista näyttöä. Aivokudosviljelytutkimukset ovat kuitenkin osoittaneet, että oligodendrosyytit tukevat kaikkien CDV:n geenien transkriptiota ja myöhemmin degeneroituvat, vaikka näissä soluissa ei löydy virusproteiineja. On vielä osoitettava, miten tällainen rajoitettu infektio johtaa demyelinaatioon. Samanaikaisesti immunologisen toipumisen kanssa taudin myöhemmässä vaiheessa demyelinoivissa leesioissa esiintyy tulehdusta, joka joillakin eläimillä etenee. Eräät in vitro -kokeet viittaavat siihen, että krooninen demyelinaatio johtuu viruksen aiheuttamaan immuunivasteeseen liittyvästä sivullisesta mekanismista, jossa vasta-aineista riippuvaisilla soluvälitteisillä reaktioilla on tärkeä rooli. Taudin etenevä tai jopa uusiutuva kulku liittyy viruksen pysyvyyteen hermostossa. CDV:n pysyvyys aivoissa näyttää johtuvan viruksen ei-sytolyyttisestä valikoivasta leviämisestä, jossa nuppuuntuminen on hyvin vähäistä. Näin CDV välttyy immuunivalvonnalta. \* Vastaava kirjoittaja. Faksi: 41 31 63125 38. 0378-l 135/95/$09,50 0 1995 Elsevier Science B.V. (Elsevier Science B.V.). Kaikki oikeudet pidätetään SSDZO378-1135(95)00021-6.

**Tulos**

Koiran penikkatautivirustartunnan neurobiologia

**Esimerkki 1.214**

BALB/c-hiirten ainutlaatuisella alalinjalla, jota kutsutaan nimellä BALB/cV, esiintyy rintarauhaskasvaimia keskinkertaisesti (47 %), ja siinä esiintyy erillinen maidon välityksellä tarttuva hiiren rintarauhaskasvainvirus (MMTV). BALB/cV-alalinjaa käytettiin tutkimaan sellaisten mahdollisten virus-isäntä-vuorovaikutusten molekulaarista perustaa, joihin liittyy solupinnalla ilmentyviä MMTV-proteiineja. Solupinnan jodinoinnilla tunnistettiin virusspesifisiä proteiineja, jotka ilmentyvät BALB/cV:n primäärisissä rintarauhaskasvainsoluissa, joita kasvatettiin viljelyssä. Toisin kuin (C3H)MMTV:tä tuottavat solulinjat, jotka ilmentävät MMTV:n gp52:ta, BALB/cV:n kasvainsoluissa ei ollut gp52:ta, vaan ne ilmentivät sen sijaan 68K:n env:hen liittyvää proteiinia. 68K"" -proteiini havaittiin myös metabolisesti leimattujen BALB/cV-kasvainsolujen pinnalla ulkoisella immunoprecipitaatiotekniikalla. 68Kp"":n ilmentyminen rajoittui BALB/cV-hiirten rintakudoksiin, jotka ilmentävät myös muita MMTV-proteiineja. Biokemiallisessa analyysissä todettiin, että 68K"" ei ollut muuttunut N-sidoksisella glykosylaatiolla. '%I-merkitty 68K"" vapautui nopeasti kasvainsoluviljelmien väliaineeseen ja saatiin talteen sekä liukoisena proteiinina että 100,OOOg:n pellettinä. Tämän solupinnalla ilmentyvän virusproteiinin biologinen tehtävä on edelleen tuntematon.

**Tulos**

Hiiren nisäkasvainviruksen proteiinin tunnistaminen ja karakterisointi, joka ekspressoituu ainutlaatuisesti BALB/cV:n nisäkasvainsolujen pinnalla.

**Esimerkki 1.215**

Lisäteksti 1: Yksityiskohtaiset tiedot näytteiden keräämisestä, käsittelystä, polymeraasiketjureaktiomäärityksistä, laadunvalvontatoimenpiteistä ja hengitystievirusten tunnistamiseen käytetyistä määritysparametreista. Näytteiden kerääminen 36 Kaikki pyyhkäisynäytteet kerättiin muovivartisella, viskoosinupillisella pyyhkäisynäytteellä, joka oli kuljetusputkessa, jonka vaahtomuovisäiliö oli kastettu viruksen kuljetusalustalla (Virocult MW950, Medical Wire & Equipment, 38 Wiltshire, Englanti). Molemmista sieraimista otettiin näyte yhdellä pyyhkäisypuikolla. 39 Laadunvalvontatoimenpiteet 40 Kumpaankin näytteeseen lisätyllä tunnetulla määrällä koko hevosen herpesvirusta (EHV) arvioitiin nukleiinihapon 41 uuton laatua ja polymeraasiketjureaktion (PCR) inhibiittoreiden esiintymistä. 1 Minkä tahansa uutteen, jonka 42 syklin kynnysarvo (Ct) oli > 3 eroa EHV:n reaaliaikaisen PCR- 43 määrityksen odotettuun arvoon nähden, katsottiin epäonnistuneen laadunvalvonnassa, ja näyte uutettiin uudelleen. Näytteen laatua arvioitiin testaamalla ihmisen genomisen DNA:n merkkiaine, endogeeninen 46 retrovirus-3 (ERV-3). 2 Olemme aiemmin osoittaneet, että näytteistä, joissa oli ERV-3 Ct a mukautettu klusterointia käyttäen sandwich-estimaattoreita, jotta havaintojen välinen korrelaatio lapsen sisällä voidaan ottaa huomioon; b Yksittäiset rinoviruslajit eivät summaudu "Kaikki rinovirukset" -löydöksiksi, koska samassa ARI-episodissa havaittiin useampi kuin yksi rinoviruslaji tai yksittäisiä uusia virushavaintoja, joissa HRV-positiivisia näytteitä ei voitu sekvensoida.

**Tulos**

Alempien hengitysteiden oireita aiheuttavat virukset alle 2-vuotiailla lapsilla: 1 havaintoa ORChID-syntymäkohortista. 2

**Esimerkki 1.216**

Genomin rakenteellinen annotaatio eli kaikkien genomin toiminnallisten elementtien (esim. geenit, ei-koodaavat RNA:t, proteiinit ja säätelyelementit) tunnistaminen ja rajaaminen on järjestelmätason analyysin edellytys. Nykyiset genomin annotaatio-ohjelmat eivät tunnista kaikkia genomin toiminnallisia elementtejä, erityisesti pieniä ei-koodaavia RNA:ita (sRNA). Koko genomin transkriptomianalyysi on täydentävä menetelmä ''uusien'' geenien, pienten RNA:iden, säätelyalueiden ja operonirakenteiden tunnistamiseksi, mikä parantaa bakteerien rakenteellista annotointia. Erityisesti ei-koodaavien RNA:iden tunnistaminen on paljastanut niiden laajan esiintymisen ja toiminnallisen merkityksen geenien säätelyssä, stressissä ja virulenssissa. Histophilus somni -bakteerin, joka on yksi naudan hengitystiesairauden (BRD) sekä naudan hedelmättömyyden, abortin, verenmyrkytyksen, niveltulehduksen, sydänlihastulehduksen ja tromboottisen meningoenkefaliitin aiheuttajista, ei-koodaavista transkripteistä tiedetään kuitenkin hyvin vähän. Tässä tutkimuksessa raportoimme yhden nukleotidin resoluution transkriptomikartan H. somni -kannasta 2336 käyttäen RNA-Seq-menetelmää. RNA-Seq-pohjainen transkriptomikartta tunnisti H. somni -genomissa 94 sRNA:ta, joista 82:aa sRNA:ta ei ollut koskaan ennustettu tai raportoitu aiemmissa tutkimuksissa. Tunnistimme myös 38 uutta potentiaalista proteiineja koodaavaa avointa lukukehystä, jotka puuttuivat nykyisestä genomin annotaatiosta. Transkriptomikartan avulla voitiin tunnistaa 278 operonin (yhteensä 730 geeniä) rakenteet genomissa. Kun sitä verrattiin ei-virulenttisen 129Pt-kannan genomisekvenssiin, suhteettoman suuri määrä sRNA:ta (,30 %) sijaitsi genomialueella, joka on ainutlaatuinen kannalle 2336 (,18 % koko genomista). Tämä havainto viittaa siihen, että useat kannassa 2336 äskettäin tunnistetuista sRNA:ista voivat olla mukana kantakohtaisissa sopeutumisissa.

**Tulos**

Naudan hengitystiesairauksien taudinaiheuttajan "Histophilus somni" RNA-Seq-pohjainen transkriptiokartta 2336

**Esimerkki 1.217**

Patogeenisen mikrobiologisen kontaminaation valvonta ja ehkäisy ovat bioturvallisuuden hallinnan tärkeimpiä tehtäviä laboratoriossa. On kiireellisesti luotava tehokas ja puolueeton menetelmä tällaisen kontaminaation arvioimiseksi ja seuraamiseksi. Tässä tutkimuksessa pyritään selvittämään seuraavan sukupolven sekvensointimenetelmän (NGS) hyödyllisyyttä mahdollisen kontaminaation havaitsemisessa mikrobiologian laboratoriossa. Ympäristönäytteitä otettiin laboratorion useista paikoista, mukaan lukien sentrifugiroottorin sisäpuolelta, molekyylibiologisiin testeihin käytetystä penkistä, virusviljelyyn, kliinisten näytteiden esikäsittelyyn ja nukleiinihappojen uuttamiseen käytetyistä bioturvallisuuskaappien penkeistä, pesemällä paikat steriileillä flokkipyyhkeillä. Uutettuja kokonaisnukleiinihappoja käytettiin kirjastojen rakentamiseen syväsekvensointia varten Ion Torrent -alustan protokollan mukaisesti. Jokaisesta näytteestä saatiin vähintään 1 G raakadataa. Virusten ja bakteerien lukemien osuus oli 0,01 ± 0,02 % ja 77,76 ± 12,53 % kokonaislukemasta. Virussekvenssit olivat todennäköisesti peräisin geenien monistustuotteista, naudan sikiöseerumin saastuttamista nukleiinihapoista. Myös ympäristön mikro-organismeista peräisin olevia lukuja tunnistettiin. Tuloksemme osoittivat, että NGS-menetelmällä pystyttiin seuraamaan laboratorion eri lähteistä peräisin olevia nukleiinihappokontaminaatioita, mikä osoittaa sen lupaavan käyttökelpoisuuden mahdollisen laboratoriokontaminaation riskin seurannassa ja arvioinnissa. Reagensseista, jäännös-DNA:sta ja ympäristöstä aiheutuva kontaminaatioriski olisi otettava huomioon tietojen analysoinnissa ja tulosten tulkinnassa.

**Tulos**

Seuraavan sukupolven sekvensointitekniikan soveltaminen mikrobiologian laboratorion kontaminaatioseurantaan

**Esimerkki 1.218**

Seitsemäs uusi keuhkokuumetta aiheuttava, ihmistä infektoiva Betacoronavirus (2019 novel coronavirus, 2019-nCoV) on peräisin Wuhanista, Kiinasta. 2019-nCoV:n ja muiden ihmisen hengitystiesairauksia aiheuttavien koronavirusten evolutiivinen suhde ei ole läheinen. Pyrimme luonnehtimaan 2019-nCoV:n translatoitujen proteiinien suhdetta muihin Orthocoronavirinae-lajeihin. Genomisekvensseistä rakennettiin fylogeneettinen puu. Kymmenen 2019-nCoV:n proteiinin homologien läsnäolosta ja puuttumisesta haetuista profiileista kehitettiin klusteripuu. Yhdistettyjä tietoja käytettiin luonnehtimaan 2019-nCoV:n translatoitujen proteiinien suhdetta muihin Orthocoronavirinae-lajeihin. Analyysimme viittaa luotettavasti siihen, että 2019-nCoV on läheisimmin sukua BatCoV RaTG13:lle ja kuuluu Betacoronavirus-suvun Sarbecovirus-alalajiin yhdessä SARS-koronaviruksen ja Bat-SARS-tyyppisen koronaviruksen kanssa. Yhden annotoidun 2019-nCoV-proteiinin homologiproteiinien fylogeneettisen profiloinnin klusteri muita genomisekvenssejä vastaan paljasti kaksi kymmenen 2019-nCoV-proteiinin kladia. Kladi 1 koostui Orthocoronavirinae-heimon konservoitujen proteiinien ryhmästä, johon kuuluivat Orf1ab-polyproteiini, nukleokapsidiproteiini, Spike-glykoproteiini ja membraaniproteiini. Kladi 2 koostui kuudesta proteiinista, jotka ovat yksinomaan Sarbecoviruksen ja Hibecoviruksen proteiineja. Kaksi kuudesta Clade 2:n ei-rakenteellisesta proteiinista, NS7b ja NS8, oli konservoitunut yksinomaan 2019-nCoV:n, BetaCoV\_RaTG:n ja BatSARS-tyyppisen Cov:n välillä. NS7b:n ja NS8:n on aiemmin osoitettu vaikuttavan immuunivasteen signalointiin SARS-CoV:n kokeellisessa mallissa. Näin ollen arvelimme, että tieto NS7b- ja NS8-proteiinien toiminnallisista muutoksista evoluution aikana voi tarjota tärkeää tietoa 2019-nCoV:n ihmisiin tarttuvan ominaisuuden tutkimiseksi.

**Tulos**

Ei-rakenteelliset proteiinit NS7b ja NS8 liittyvät todennäköisesti fylogeneettisesti 2019-nCoV:n evoluutioon.

**Esimerkki 1.219**

Tavoite: Joulukuun 2012 ja maaliskuun 2013 välisenä aikana tehtiin epidemiologinen tutkimus koirien parvovirusinfektiosta Bhubaneswarissa, Odishassa ja sen ympäristössä, ja esiintyvyyttä tutkittiin iän, rodun ja sukupuolen perusteella. Aineisto ja menetelmät: Yhteensä 71 ulostenäytettä ripulista epäillyistä koirista kerättiin steriiliin fosfaattipuskurisuolaliuokseen (10 % W/V), ja ne tutkittiin polymeraasiketjureaktiolla (PCR) koiran parvovirusinfektion toteamiseksi. Tämän jälkeen tehtiin epidemiologinen tutkimus iän, rodun ja sukupuolen suhteen. Tulokset: Analysoiduista 71 näytteestä 29 (40,85 %) todettiin positiivisiksi PCR-määrityksellä. Tartunta oli yleisempää deshi/paikallisilla roduilla (34,48 %), seuraavaksi eniten saksanpaimenkoirilla (17,24 %), yhtä paljon sekarotuisilla ja labradorinnoutajilla (10,34 %), rottweilerilla ja saksanseisojalla (6,90 %) ja vähemmän neljällä rodulla, kuten dalmatialaisilla, neapoliittisilla mastiffeilla, mopseilla ja isobritannialaisilla (3,45 %). Ikäryhmittäinen esiintyvyystutkimus osoitti, että tartuntoja oli enemmän 3-6 kuukauden ikäryhmässä (41,37 %), minkä jälkeen 1-3 kuukauden ja 6-12 kuukauden ikäryhmissä esiintyvyys oli yhtä suuri (27,59 %) ja yli 12 kuukauden ikäryhmissä esiintyvyys oli pieni (3,45 %). Esiintyvyys oli pääasiassa suurempi miehillä (86,21 %) kuin naisilla (13,79 %). Epidemiologinen analyysi osoitti, että rodun mukaan esiintyvyys oli suurempi Deshi-roduissa kuin muissa roduissa, alle 6 kuukauden ikäryhmät olivat alttiimpia parvovirustartunnalle ja uroksilla oli eniten tartuntoja.

**Tulos**

Koirien parvovirusinfektioiden epidemiologinen tutkimus Bhubaneswarissa, Odishassa, Intiassa ja sen ympäristössä.

**Esimerkki 1.220**

Keskustelemme kriisien ennaltaehkäisystä ja hallinnasta vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) puhkeamisen kolmen ensimmäisen kuukauden aikana Singaporessa. Tutkimuksessa tarkasteltiin neljää kansanterveydellistä kysymystä: ennaltaehkäisytoimenpiteet, oman terveyden arviointi, SARS-tietämys ja kriisinhallinnan arviointi. Teimme puhelinhaastattelut edustavalle otokselle, johon kuului 1 201 aikuista, jotka olivat yli 21-vuotiaita. Havaitsimme, että sukupuoli, ikä ja asenne (ahdistuneisuus ja käsitys avoimesta viestinnästä viranomaisten kanssa) olivat yhteydessä ennaltaehkäisevien toimenpiteiden harjoittamiseen. Singaporen taudinpurkauksen analyysi parantaa ymmärrystämme tartuntatautiepidemioiden sosiaalisista ulottuvuuksista.

**Tulos**

SARSIN SYNTYMINEN

**Esimerkki 1.221**

Maailma järkyttyi vuoden 2003 alussa, kun vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) pandemia oli uhkaava. Tämän uuden koronaviruksen (SARS-koronaviruksen) aiheuttaman uuden taudin puhkeaminen iski pahiten Aasian ja Tyynenmeren alueella, mutta lopulta se levisi viiteen maanosaan. SARS-epidemian leviämisnopeus oli ennennäkemätön, koska mannertenväliset kuljetukset olivat erittäin tehokkaita. Maailman terveysjärjestön (WHO) kansainvälisen yhteistyön ansiosta etiologinen taudinaiheuttaja pystyttiin tunnistamaan noin kuukausi epidemian puhkeamisen jälkeen. Molekyylibiologian ja bioinformatiikan avulla viruksen genomi saatiin purettua kokonaan muutamassa viikossa. Yli 1000 julkaisua fylogeniasta, epidemiologiasta, genomiikasta, laboratoriodiagnostiikasta, viruslääkkeistä, immunisaatiosta, patogeneesistä, kliinisestä taudinkuvasta ja hoidosta kertyi vain yhden vuoden aikana. Vaikka viruksen tarkka eläinreservoari ja se, miten se kehittyi ihmisen patogeeniksi, ovat edelleen hämärän peitossa, taudin tarkka diagnosointi ja epidemiologinen hallinta ovat nyt mahdollisia. Tässä artikkelissa tarkastellaan, mitä viruksesta ja taudista tällä hetkellä tiedetään. Journal of NeuroVirology (2005) 11, 455-468.

**Tulos**

Vakava akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS)

**Esimerkki 1.222**

Daniel, S.L., Legendre, A.M., Moore, R.N. ja Rouse, B.T., 1993. Kissan luuytimestä peräisin olevien makrofagien eristäminen ja toiminnalliset tutkimukset. Vet. lmmunol. Immunopathol., Tässä raportissa kuvaamme kissan luuydinsolujen in vitro -viljelymenetelmän, jolla saadaan 14 päivän viljelyn jälkeen suuri määrä rauhallisia makrofageja. Suurin osa viljellystä solupopulaatiosta koostuu makrofageista morfologian, makrofagispesifisen sytokemian ja fagosytoosin perusteella arvioituna. Muut solut olivat lymfosyyttejä, luuytimen stroomasoluja, fibroblasteja ja satunnaisia polymorfonukleaarisia leukosyyttejä. Vaikka lepotilassa olevat solut eivät tuottaneet havaittavissa olevaa interleukiini 1:tä, lipopolysakkaridilla (LPS) tapahtuva stimulaatio indusoi biologisesti aktiivisen interleukiini 1:n tuotannon. 6 tunnin LPS-stimulaation jälkeen oli havaittavissa mRNA:ta tuumorinekroositekijä a:lle ja interleukiini lfl:lle. MRNA:n puuttuminen stimuloimattomissa soluissa osoittaa, että viljellyt makrofagit eivät aktivoituneet ennen kuin niitä stimuloitiin LPS:llä tai muovin tarttumisella. Tämä lähestymistapa tarjoaa hyödyllisen keinon mitata virusinfektioiden tai muiden tekijöiden mahdollisia moduloivia vaikutuksia kissojen makrofagien geeniekspressioon. LYHENTEET BM, luuydin; FeLV, kissan leukemiavirus; FIV, kissan immuunikatovirus; HIV, ihmisen immuunikatovirus; IL-I, interleukiini 1; LPS, lipopolysakkaridi; PHA-P, fytohemagglutiniini P; PMN, polymorfonukleaariset ieukosyytit; TNF, tuumorinekroositekijä.

**Tulos**

Kissan luuytimestä peräisin olevien makrofagien eristäminen ja toiminnalliset tutkimukset

**Esimerkki 1.223**

Coronaviruksen kuoriproteiini (E-proteiini) on pieni integraalinen kalvoproteiini, jolla on monia tehtäviä virionin kokoamisessa, morfogeneesissä ja viruksen ja isännän vuorovaikutuksessa. Eri koronavirusten E-proteiineilla on huomattavia yhtäläisyyksiä biokemiallisissa ominaisuuksissa ja biologisissa toiminnoissa, mutta ne näyttävät omaksuvan erilaisen kalvotopologian. Tässä raportissa tutkimme SARS-CoV E -proteiinin kalvotopologiaa immunofluoresenssivärjäyksellä soluista, jotka on permeabiloitu eri tavoin detergenteillä, ja proteinaasi K -suojausmäärityksellä. Paljastui, että SARS-CoV E -proteiinin sekä N- että C-terminaalit ovat alttiina kalvojen sytoplasmiselle puolelle (N cyto C cyto ). Sitä vastoin rinnakkaiset kokeet osoittivat, että tarttuvan keuhkoputkentulehdusviruksen (IBV) E-proteiini läpäisi kalvot kerran, jolloin N-terminaali oli luminaalisesti alttiina ja C-terminaali sytoplasmisesti alttiina (N exo(lum) - C cyto ). Mielenkiintoista oli, että pieni osa SARS-CoV:n E-proteiinista oli modifioitu N-sidoksisella glykosylaatiolla Asn 66:ssa ja se oli asettunut kalvojen sisään kerran C-terminaalin ollessa alttiina luminaalipuolelle. SARS-CoV E -proteiinin kahden erilaisen membraanitopologian esiintyminen voi antaa hyödyllisiä vihjeitä SARS-CoV:n patogeneesistä.

**Tulos**

Biokemialliset todisteet nisäkässoluissa ilmaistun vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen kuoriproteiinin sekamuotoisen kalvotopologian olemassaolosta

**Esimerkki 1.224**

Taustaa: Sytokiineillä on tärkeä rooli viruslääkkeissä. Tutkimme, vaikuttavatko IFN-γ:n, TNF-α:n ja IL-10:n polymorfismit alttiuteen sairastua vakavaan akuuttiin hengitystieoireyhtymään (SARS) ja sen lopputulokseen. Tapaus-verrokkitutkimus tehtiin 476 kiinalaisella SARS-potilaalla ja 449 terveellä kontrollihenkilöllä. Testasimme IFN-γ:n, TNF-α:n ja IL-10:n polymorfismien yhteyttä SARSiin. Tulokset: IFN-γ +874A -alleeli oli yhteydessä alttiuteen sairastua SARSiin annosriippuvaisesti (P < 0,001). Henkilöillä, joilla oli IFN-γ +874 AA- ja AT-genotyyppi, oli 5,19-kertainen (95 %:n luottamusväli [CI], 2,78-9,68) ja 2,57-kertainen (95 %:n CI, 1,35-4,88) riski sairastua SARSiin. IL-10:n ja TNF-α:n polymorfismit eivät olleet yhteydessä SARS-alttiuteen. Päätelmät: IFN-γ +874A -alleeli osoittautui SARS-alttiuden riskitekijäksi.

**Tulos**

BMC Infectious Diseases Interferon gamma -geenin polymorfismi +874 A/T liittyy vakavaan akuuttiin hengitystieoireyhtymään.

**Esimerkki 1.225**

Theilerin hiiren enkefalomyeliittivirus (TMEV) kuuluu Picornaviridae-heimoon kuuluvaan Cardiovirus-sukuun, joka on yksijuosteisten RNA-virusten perhe. Aiemmin osoitimme, että sukulaislajiin kuuluvassa kardioviruksessa, enkefalomyokardiittiviruksessa, tapahtuu ohjelmoitu ؊1 ribosomaalinen kehyssiirtymä (؊1 PRF) konservoidussa G\_GUU\_UUU-sekvenssissä polyproteiinin avoimen lukukehyksen (ORF) 2B-koodaavalla alueella. Tässä osoitamme, että ؊1 PRF tapahtuu samankaltaisessa kohdassa TMEV-genomin translaation aikana. Lisäksi osoitamme, että TMEV:ssä tapahtuvaan tehokkaaseen frameshiftingiin tarvitaan ennustettu 3= RNA:n stem-loop-rakenne ei-kanonisella etäisyydellä siirtokohdan alapuolella ja että frameshifting edellyttää myös virusinfektiota. G\_GUU\_UUU-siirtymäkohdan mutaatio frameshiftingin estämiseksi johtaa heikentyneeseen virukseen, jonka kasvukinetiikka on heikentynyt ja jonka fenotyyppi on pieni. Kehystensiirto viruksen yhteydessä todettiin erittäin tehokkaaksi, 74-82 prosentiksi, mikä on tietojemme mukaan suurin tähän mennessä millekään virukselle todettu kehystensiirtotehokkuus. Ehdotamme, että erittäin tehokas ؊1 PRF TMEV:ssä tarjoaa mekanismin, jonka avulla päästään eroon ekvimolaarisen ilmentymisen rajoituksista, jotka ovat yleensä luontaisia pikornavirusten yhden polyproteiinin ilmentämisstrategialle. Monet virukset käyttävät ohjelmoitua ؊1-ribosomaalista frameshiftingiä (؊1 PRF) tuottaakseen erilaisia proteiinituotteita määritellyssä suhteessa tai kääntääkseen päällekkäisiä ORF:iä koodauskapasiteetin lisäämiseksi. Muutamia poikkeuksia lukuun ottamatta ؊1 PRF tapahtuu tietyissä liukuvissa" heptanukleotidisekvensseissä, ja sitä stimuloi RNA:n rakenne, joka alkaa 5-9 nukleotidia (nt) liukukohdasta alavirtaan. Tässä kuvaamme ؊1 PRF:n epätavallisen tapauksen Theilerin hiiren enkefalomyeliittiviruksessa (TMEV), joka on poikkeuksellisen tehokas (74-82 % ribosomeista siirtyy vaihtoehtoiseen lukukehykseen) ja joka, toisin kuin muut esimerkit ؊1 PRF:stä, on riippuvainen stem-loop-rakenteesta, joka alkaa 14 nt:n päässä liukukohdasta. Lisäksi TMEV-pohjaisissa reportterikonstruktioissa transfektoiduissa soluissa tehokas kehysten siirtyminen on ratkaisevasti riippuvainen virusinfektiosta. Ehdotamme, että TMEV on kehittänyt frameshiftingin uudeksi mekanismiksi, jolla ribosomit poistetaan viestistä ("ribosominielu") 3=-koodattujen replikaatioproteiinien synteesin alentamiseksi.

**Tulos**

Ribosomaalisen kehyssiirtymän karakterisointi Theilerin hiiren enkefalomyeliittiviruksessa

**Esimerkki 1.226**

Kuvaamme MPP-algoritmin (Multiplex Primer Prediction), jonka avulla voidaan rakentaa multipleksiyhteensopivia alukesarjoja, joilla voidaan monistaa kaikki suurten, moninaisten ja epäyhtenäisten kohdesekvenssijoukkojen jäsenet. MPP-algoritmi on skaalautuva suuremmille kohdejoukoille kuin muut saatavilla olevat ohjelmistot, eikä se vaadi monisekvenssikohdistusta. Sovelsimme sitä virusten tunnistamiseen liittyviin kysymyksiin ja osoitimme, että virusten välillä ei ole yleisesti konservoituja alukesekvenssejä ja että kaikkien sekvensoitujen virusten amplikonien tuottaminen voisi vaatia mahdottoman suuren määrän alukkeita (3700 $ 18-mers tai 2000 $ 10-mers). Tämän jälkeen suunnittelimme alukesarjat erikseen kullekin virusperheelle ja useille erilaisille lajeille, kuten suu- ja sorkkatautivirukselle (FMDV), influenssa A -viruksen hemagglutiniini- (HA) ja neuraminidaasi (NA) -segmenteille, Norwalk-virukselle ja HIV-1:lle. Osoitimme empiirisesti ohjelmiston soveltamisen 16 lyhyen (10 nt) alukkeen multipleksisarjalla, joka on suunniteltu monistamaan Poxviridae-heimon alukkeita ja tuottamaan spesifisen amplikonin rokoteviruksesta.

**Tulos**

Multiplex-alkuaineiden ennusteohjelmisto poikkeavia kohteita varten

**Esimerkki 1.227**

Puolueettomat seuraavan sukupolven sekvensointimenetelmät (NGS) mahdollistavat patogeenien kattavan havaitsemisen kliinisen mikrobiologian laboratoriossa, ja niillä on lukuisia sovelluksia kansanterveyden valvonnassa, tautipesäkkeiden tutkimisessa ja tartuntatautien diagnosoinnissa. Teknologian käytännön käyttöönottoa haittaa kuitenkin bioinformatiikan haaste, joka liittyy tulosten analysointiin tarkasti ja kliinisesti merkityksellisessä ajassa. Tässä kuvataan SURPI (''sequence-based ultrarapid pathogen identification''), laskennallinen putki patogeenien tunnistamiseksi kliinisistä näytteistä tuotetuista monimutkaisista metagenomisista NGS-tiedoista, ja demonstroidaan putken käyttöä 237 kliinisen näytteen analysoinnissa, jotka sisältävät yli 1,1 miljardia sekvenssiä. SURPI voidaan ottaa käyttöön sekä pilvipalvelimilla että erillisillä palvelimilla, ja se hyödyntää kahta huipputeknistä kohdistinta, SNAPia ja RAPSearchia, jotka ovat yhtä tarkkoja kuin nykyiset bioinformatiikkatyökalut, mutta suorituskyvyltään kertaluokkia nopeampia. Nopeassa tilassa SURPI havaitsee viruksia ja bakteereja skannaamalla 7-500 miljoonan lukuluvun datajoukot 11 minuutista 5 tuntiin, kun taas kattavassa tilassa kaikki tunnetut mikro-organismit tunnistetaan, minkä jälkeen tehdään de novo -kokoonpano ja proteiinihomologian haku poikkeaville viruksille 50 minuutista 16 tuntiin. SURPI on myös suoraan edistänyt reaaliaikaista mikrobidiagnoosia akuutisti sairailla potilailla, mikä korostaa sen mahdollista keskeistä roolia sellaisten puolueettomien NGS-pohjaisten kliinisten määritysten kehittämisessä, jotka koskevat infektiotauteja ja jotka vaativat nopeita läpimenoaikoja.

**Tulos**

Pilviyhteensopiva bioinformatiikkaputki ultranopeaa patogeenien tunnistamista varten kliinisten näytteiden seuraavan sukupolven sekvensoinnista.

**Esimerkki 1.228**

Arvioidaan eristämisen ja kontaktien jäljittämisen toteuttamiskelpoisuutta vuoden 2019 nCoV:n maahantuotujen tapausten aiheuttaman tartunnan leviämisen valvomiseksi eteenpäin. Kehitimme stokastisen tartuntamallin, joka oli parametrisoitu vuoden 2019 nCoV-epidemiaa varten. Käytimme mallia kvantifioidaksemme kontaktien jäljittämisen ja tapausten eristämisen mahdollisen tehokkuuden vuoden 2019 nCoV:n kaltaisen taudinaiheuttajan torjunnassa. Tarkastelimme skenaarioita, jotka vaihtelivat seuraavien suhteen: alkuperäisten tapausten määrä, perusmonistumisluku R0, viive oireiden alkamisesta eristämiseen, todennäköisyys, että kontaktit jäljitetään, ennen oireiden alkamista tapahtuvan tartunnan osuus ja subkliinisten tartuntojen osuus. Oletimme, että eristäminen esti mallissa kaiken edelleen leviämisen. Taudinpurkauksia pidettiin hallittuina, jos tartunta päättyi 12 viikon kuluessa tai ennen kuin tapauksia oli yhteensä 5000. Mittasimme, miten hyvin taudinpurkauksia onnistuttiin hallitsemaan eristämisen ja kontaktien jäljittämisen avulla, ja määrittelimme viikoittaisen jäljitettyjen tapausten enimmäismäärän mitataksemme kansanterveysponnistelujen toteuttamiskelpoisuutta. Tulokset: Vaikka simuloidut taudinpurkaukset, jotka alkoivat vain viidellä ensimmäisellä tapauksella, R0 oli 1,5 ja siirtyminen ennen oireiden ilmaantumista oli vähäistä, voitiin hallita jopa alhaisella kontaktien jäljittämisen todennäköisyydellä, taudinpurkauksen hallinnan mahdollisuudet heikkenivät dramaattisesti ensimmäisten tapausten lukumäärän kasvaessa, R0:n kasvaessa ja siirtymisen lisääntyessä ennen oireiden ilmaantumista. Eri alkutapausten lukumäärillä suurin osa skenaarioista, joissa R0 oli 1,5, oli hallittavissa, kun alle 50 prosenttia kontakteista jäljitettiin onnistuneesti. Kun R0 oli 2,5 ja 3,5, yli 70 prosenttia ja 90 prosenttia kontakteista oli jäljitettävä, jotta suurin osa taudinpurkauksista saatiin hallintaan. Oireiden puhkeamisen ja eristämisen välinen viive vaikutti eniten siihen, oliko taudinpurkaus hallittavissa pienemmillä R0-arvoilla. Suuremmilla R0-arvoilla ja suurella alkutapausten määrällä kontaktien jäljittäminen ja eristäminen oli mahdollisesti mahdollista vain, jos alle 1 % tartunnoista tapahtui ennen oireiden alkamista. Tulkinta: Havaitsimme, että useimmissa tilanteissa kontaktin jäljittäminen ja tapausten eristäminen ei todennäköisesti riitä yksinään hallitsemaan uutta 2019-nCov-epidemiaa kolmen kuukauden kuluessa. Torjunnan todennäköisyys pienenee, kun oireiden ilmaantumisesta eristämiseen kuluu enemmän aikaa, kontaktien jäljittämisen avulla todettujen tapausten määrä vähenee ja tartunnan leviäminen ennen oireita lisääntyy. Tätä mallia voidaan muuttaa siten, että se vastaa päivitettyjä tartuntaominaisuuksia ja taudinpurkauksen hallinnan tarkempia määritelmiä, jotta voidaan arvioida paikallisten torjuntatoimien mahdollista onnistumista.

**Tulos**

Otsikko: Vuoden 2019 nCoV-taudinpurkausten hallinnan toteutettavuus eristämällä tapaukset ja kontaktit.

**Esimerkki 1.229**

Kuvaamme näyttöön perustuvan lähestymistavan terveydenhuollon työntekijöiden sietokyvyn parantamiseen influenssapandemiaan valmistautumiseksi. Lähtökohtana on näyttö terveydenhuollossa työskentelyyn liittyvästä stressistä SARS-epidemian aikana. SARSiin liittyi merkittävää pitkäaikaista stressiä terveydenhuollon työntekijöillä, mutta ei lisääntynyttä psyykkistä sairastumista. Pandemiaan liittyvää stressiä voidaan ehkä parhaiten vähentää toimenpiteillä, joiden tarkoituksena on parantaa psyykkisesti terveiden ihmisten sietokykyä. Soveltuvia malleja yksilöiden sopeutumisen parantamiseksi ovat Folkmanin ja Greerin stressin arvioinnin ja selviytymisen kehys sekä psykologinen ensiapu. Organisaatiotasolla sietokykyä tuetaan tehokkaalla koulutuksella ja tuella, aineellisten ja suhteellisten reservien kehittämisellä, tehokkaalla johtamisella, "magneettisairaaloiden" ominaisuuksien vaikutuksilla ja organisaation oikeudenmukaisuuden kulttuurilla. Näyttö tukee tavoitetta kehittää ja ylläpitää organisaation sietokyvyn kulttuuria, jotta voidaan vähentää influenssapandemian terveydenhuollon työntekijöille aiheuttamaa odotettavissa olevaa stressiä. Tämä suositus on paljon laajempi kuin riittävän koulutuksen ja neuvonnan tarjoaminen. Vaikka pandemian vakavuus on arvaamaton, nämä ponnistelut eivät todennäköisesti mene hukkaan, koska ne tukevat sekä potilaiden että henkilökunnan terveyttä myös normaaliaikana.

**Tulos**

SARSin opetusten soveltaminen influenssapandemiaan Näyttöön perustuva lähestymistapa terveydenhuollon työntekijöiden stressin lieventämiseen.

**Esimerkki 1.230**

hoitamaton, leikkauskelvoton, villityyppinen KRAS-exon 2 -metastaattinen paksusuolen ja peräsuolen syöpä. J Clin Oncol 2014; 32: 2240-2247. 17. Karthaus M, Schwartzberg L, Rivera F ym. Päivitetty kokonaiselossaoloaika-analyysi (OS) uusien ennustavien KRAS/NRAS-mutaatioiden osalta KRAS exon 2:n lisäksi PEAK: A 1st-line phase 2 study of FOLFOX6 plus panitumumab ( pmab) or bevacizumab (bev) in metastatic colorectal cancer (mCRC). Eur J Cancer 2013; 49: S516. 18. Ciardiello F, Lenz HJ, Kohne CH et al. Hoitotulos kasvaimen RAS-mutaatiotilanteen mukaan CRYSTAL-tutkimuksessa metastaattista paksu- ja peräsuolisyöpää (mCRC) sairastavilla potilailla, jotka satunnaistettiin FOLFIRI:n ja setuksimabin kanssa tai ilman. J Clin Oncol 2014; 32: abstr 3506. 19. Amado RG, Wolf M, Peeters M et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol 2008; 26: 1626-1634. 20. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS et al. Cetuksimabi paksusuolisyövän hoidossa. N Engl J Med 2007; 357: 2040-2048. 21. Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz HJ ym. CALGB/SWOG 80405: Vaiheen III tutkimus irinotekaani/5-FU/leukovoriini (FOLFIRI) tai oksaliplatiini/5-FU/leukovoriini (mFOLFOX6) yhdessä bevasitsumabin (BV) tai setuksimabin (CET) kanssa potilaille ( pts), joilla on KRAS-villiintynyt KRAS-tyyppi Jopa 25 %:lle potilaista, joilla on > 10 päivää kestävä syvä neutropenia, kehittyy keuhkoinfiltraatti, joka ei useinkaan reagoi laajakirjoiseen antibakteeriseen hoitoon. Vaikka aiheuttavaa patogeeniä ei useimmissa tapauksissa löydetä, kyseessä voivat olla Aspergillus spp., Pneumocystis jirovecii, moniresistentit gramnegatiiviset patogeenit, mykobakteerit tai hengitystievirukset. Riskipotilailla, jotka ovat saaneet trimetopriimi-sulfametoksatsoliprofylaksia (TMP/SMX), säikeiset sienipatogeenit näyttävät olevan vallitsevia, mutta niitä ei yleensä ole osoitettu hoidon aloittamisen yhteydessä. † Tämä käsikirjoitus ei koske potilaita, joille tehdään allogeeninen hematopoieettinen kantasolusiirto. Näitä potilaita koskee erillinen AGIHO:n ohje [1] .

**Tulos**

Keuhkoinfiltraattien diagnostiikka ja mikrobilääkehoito kuumeisilla neutropeenisilla potilailla (allogeeninen SCT pois lukien): Saksan hematologian ja lääketieteellisen onkologian yhdistyksen (DGHO) infektiotautityöryhmän (AGIHO) päivitetyt ohjeet †

**Esimerkki 1.231**

Nafamostaattimesylaatti (NM), synteettinen seriiniproteaasin estäjä, jonka Japan Tobacco toi markkinoille ensimmäisen kerran vuonna 1986, on hyväksytty tulehdukseen liittyvien sairauksien, kuten haimatulehduksen, hoitoon. Viime aikoina yhä useammissa tutkimuksissa on tuotu esiin NM:n lupaavia vaikutuksia syövän etenemisen estämisessä. Yksin tai yhdistelmähoidoissa tehdyt tutkimukset ovat osoittaneet, että NM vaimentaa erilaisia pahanlaatuisia kasvaimia, kuten haima-, paksusuoli-, maha-, sappi- ja hepatosellulaarista syöpää. Tässä katsauksessa, joka perustuu useisiin aktivoiviin reitteihin, mukaan lukien kanoninen ydintekijä-κB (NF-κB) -signalointireitti, tuumorinekroositekijäreseptori-1 (TNFR1) -signalointireitti ja syöttösolujen erittämä tumorigenesiin liittyvä trytaasi, tehdään yhteenveto NM:n syöpää ehkäisevistä ominaisuuksista olemassa olevissa tutkimuksissa sekä in vitro että in vivo. Lisäksi NM:n tehosta ja sivuvaikutuksista syöpäpotilailla tehdään yksityiskohtainen yhteenveto. NM:n kasvainvastaisten vaikutusten tarkemmaksi selvittämiseksi tarvitaan tulevaisuudessa kliinisiä tutkimuksia, jotka on omistettu kliinisten sovellusten ja niiden taustalla olevien mekanismien validointiin.

**Tulos**

Proteaasi-inhibiittori nafamostaattimesylaatin kasvainvastaisten vaikutusten molekulaarinen näkökohta ja sen rooli mahdollisissa kliinisissä sovelluksissa

**Esimerkki 1.232**

Kinonit ovat korkeampien kasvien sekundaarisia aineenvaihduntatuotteita, joilla on monia biologisia vaikutuksia, kuten viruslääkkeitä ja sytotoksisuutta. Tässä tutkimuksessa 27 terpenyyli-1,4-naftokinoni- (NQ), 1,4-antrakinoni- (AQ) ja heterosyklisesti fuusioidun kinonijohdannaisen (HetQ) arvioitiin in vitro ihmisen herpesviruksen (HHV) tyyppejä 1 ja 2 sekä Dengue-viruksen serotyyppiä 2 (DENV-2) vastaan. Lisäksi testattiin sytotoksisuutta HeLa- ja Jurkat-kasvainsolulinjoissa. Käyttämällä plakkien muodostusyksikkömäärityksiä, solujen elinkelpoisuusmäärityksiä ja molekyylidockausta havaitsimme, että NQ 4 oli paras viruslääkkeistä, kun taas AQ 11 oli aktiivisin ja selektiivisin molekyyli testatuissa kasvainsoluissa. NQ 4 osoitti kohtuullista antiviraalista aktiivisuutta herpesviruksia (EC 50 : <0,4 µg/mL, <1,28 µM) ja DENV-2:ta (1,6 µg/mL, 5,1 µM) vastaan esi-infektiovaiheessa. Lisäksi NQ 4 häiritsi HHV-1:n viruksen kiinnittymistä Vero-soluihin (EC 50 : 0,12 µg/ml, 0,38 µM) erittäin korkealla selektiivisyysindeksillä (SI = 1728). In silico -analyysi ennusti, että tämä kinoni voisi sitoutua DENV-2:n E-glykoproteiinin prefuusion muotoon. Nämä havainnot osoittavat, että NQ 4 on voimakas ja erittäin selektiivinen antiviraalinen yhdiste, ja viittaavat samalla sen kykyyn ehkäistä Herpes- ja Dengue-infektioita. Lisäksi AQ 11:tä voidaan pitää kiinnostavana uusien syöpälääkkeiden suunnittelussa.

**Tulos**

molekyylit Terpenyyli-1,4-naftokinonin ja 1,4-antrakinonin yksinkertaisten ja heterosyklisesti fuusioituneiden terpenyyli-1,4-naftokinoni- ja 1,4-antrakinonijohdannaisten antiherpeti-, anti-dengue- ja antineoplastinen vaikutus †

**Esimerkki 1.233**

Olemme aiemmin tunnistaneet Moloney- ja Friend-ekotrooppisten hiirten gammaretrovirusten epätavallisia variantteja, joiden isäntäalue on muuttunut ja jotka ovat sytopaattisia luonnonvaraisen hiiren Mus dunni -lajin soluissa. Sytopatia johtui erilaisista aminohapposubstituutioista samassa kriittisessä env-jäännöksessä, joka on mukana reseptorin vuorovaikutuksessa: S82F Moloney-muunnoksessa Spl574 ja S84A Friend-hiirileukemiavirus F-S MLV:ssä. Koska M. dunni -solut kantavat muunnettua CAT-1-solupintareseptoria (dCAT-1), tutkittiin tämän reseptorivariantin merkitystä sytopatian ja isäntäalueen kannalta. Ekspressoimme NIH 3T3-alkuperää olevaa dCAT-1:tä tai mCAT-1:tä soluissa, jotka eivät normaalisti ole infektoitavissa ekotrooppisilla MLV:illä, ja arvioimme transfektanttien alttiutta virusinfektiolle ja viruksen aiheuttamalle synnyttämiselle. dCAT-1-transfektantit, mutta eivät mCAT-1-transfektantit, olivat alttiita viruksen aiheuttamalle sytopatialle, ja tähän sytopatiaan liittyi integroitumattoman virus-DNA:n kertyminen. dCAT-1-transfektantit eivät kuitenkaan myöskään toistaneet M. dunni -solujen suhteellista resistenssiä Moloney MLV:tä vastaan, eivätkä mCAT-1-transfektantit osoittaneet NIH 3T3 -solujen suhteellista resistenssiä Spl574:ää vastaan. Western-analyysi, glykosylaation estäjien käyttö ja mutageneesi reseptoriglykosylaatiokohtien poistamiseksi tunnistivat solukohtaisen glykosylaation mahdollisen roolin viruksen sisäänpääsyn moduloinnissa. Viruksen sisäänpääsyä ja viruksen aiheuttamaa synkyytiumin muodostumista CAT-1-reseptorin avulla välittää pieni määrä kriittisiä aminohappojäännöksiä reseptorissa ja viruksen Env:ssä. Viruksen sisäänpääsyä säätelee soluproteiinien glykosylaatio, ja tämä vaikutus on solu- ja virusspesifinen.

**Tulos**

Reseptoripolymorfismin ja glykosylaation merkitys ekotrooppisten hiirten gammaretrovirusten synkyyti-induktiossa ja isäntäalueen vaihtelussa.

**Esimerkki 1.234**

julkisin varoin rahoitetut arkistot, kuten WHO:n COVID-tietokanta, joissa on oikeus rajoituksettomaan tutkimukselliseen uudelleenkäyttöön ja analyyseihin missä tahansa muodossa ja millä tahansa tavalla, kunhan alkuperäinen lähde mainitaan. Elsevier myöntää nämä oikeudet ilmaiseksi niin kauan kuin COVID-19-resurssikeskus on aktiivinen. Herkistyminen yhdelle tai useammalle yleisimmälle sisäilman allergeenille on johdonmukaisesti yhdistetty astmaan lapsilla ja nuorilla aikuisilla (astman kertoimien suhde 3-18). Pölypunkki- ja torakka-allergeenien kohdalla kotitalouksien altistumisen ja herkistymisen välillä on annos-vastesuhde. Kun otetaan huomioon, että allergeeniprovokaatio voi aiheuttaa monia astman piirteitä, tulokset viittaavat vahvasti siihen, että kodin allergeenialtistuksen ja astman välillä on syy-yhteys. On kuitenkin edelleen epäselvää, missä vaiheessa kriittinen altistuminen tapahtuu (eli imeväisiässä tai myöhemmin) ja mikä merkitys allergeenialtistuksella on ollut astman yleistymiseen ja vakavuuden lisääntymiseen. Objektiiviset todisteet immuunivasteesta allergeeneille ilmenevät yleensä vasta 2 vuoden iässä. Virusinfektioilla on useita eri rooleja lapsuusiän astmassa. Imeväisiässä hengitystieinfektio voi aiheuttaa keuhkoputkentulehduksen ja aiheuttaa toistuvaa hengityksen vinkumista seuraavien vuosien aikana. Riskitekijöinä ovat kuitenkin äidin tupakointi ja pienet keuhkot syntyessä, ei niinkään allergia. Sitä vastoin rinoviruksen merkitys lasten ja nuorten aikuisten hengityskohtausten puhkeamisessa liittyy vahvasti allergiaan. Todennäköinen skenaario on siis se, että allergeenialtistus ensimmäisten elinvuosien aikana aiheuttaa herkistymistä (eli T H2 -soluja ja IgE-vasta-aineita). Jatkuva altistuminen voi ylläpitää tulehdusta nenässä ja keuhkoissa. Monet muut tekijät vaikuttavat kuitenkin hengityksen vinkumiseen, joten allergeenialtistuksen ja astman välillä ei ole yksinkertaista yhteyttä. On kuitenkin selvää, että muutokset, jotka ovat lisänneet astmaa, ovat vaikuttaneet allergisiin lapsiin. (J Allergy Clin Immunol 2000;105:S503-8.)

**Tulos**

Käytetty lyhenne BHR: Bronchial hyperreactivity RSV: Respiratory syncytial virus S504 Platts-Mills et al J ALLERGY CLIN IMMUNOL

**Esimerkki 1.235**

BALB/c-hiirten infektio hiiren hepatiittiviruksen JHM-kannalla (MHV-JHM) millä tahansa useista väleistä suhteessa ovalbumiinin (OVA) antamiseen johti kohonneisiin OVA-spesifisiin IgG 2 a -tiittereihin. Koska gammainterferonin (IFN) on todettu vaikuttavan IgG 2 a -tuotannon säätelyyn, pyrittiin määrittämään, muuttuivatko tämän sytokiinin pitoisuudet tartunnan saaneiden hiirten seerumissa. Seerumin IFN-y:tä ei havaittu, mutta MHV-JHM-tartunnan saaneiden hiirten käsittely monoklonaalisella anti-IFN-? vasta-aineella johti korkeaan kuolleisuuteen ja lyhentyneeseen eloonjäämisaikaan, suurentuneisiin virustittereihin maksassa ja pernassa sekä vakavampaan virukseen liittyvään patologiaan verrattuna koekäsiteltyihin, tartunnan saaneisiin hiiriin. Immunoterapia rekombinantti-IFN-7:llä paransi tautia, mikä näkyi kuolleisuudessa ja virustittereissä kohde-elimissä.

**Tulos**

Gammainterferonin merkitys herkkien hiirten infektiossa hiiren koronaviruksen, MHV-JHM:n, kanssa.

**Esimerkki 1.236**

Väestön mahdollinen altistuminen nanomateriaaleille ympäristössä ja työelämässä on herättänyt huolta niihin liittyvistä terveyshaitoista, erityisesti keuhkovaurioista ja -sairauksista. Monet tutkimukset ovat osoittaneet, että useat NM-tyypit voivat aiheuttaa erilaisia biologisia reaktioita, kuten keuhkotulehduksen ja oksidatiivisen stressin, jotka edistävät allergiaa, fibroosia ja granulooman muodostumista. Vähemmän huomiota on kiinnitetty terveysvaikutuksiin, jotka voivat johtua altistumisesta NM:ille ja muille stressitekijöille, kuten patogeeneille, ja erityisesti alttiuteen virusinfektioille. Tässä luvussa esitetään yhteenveto NM-yhdisteisiin ja virusaltistuksiin liittyvästä nykyisestä kirjallisuudesta, jossa keskitytään ensisijaisesti immuunijärjestelmän muokkaamiseen. Lisäksi käsitellään yhteenvetoa tehdyistä tutkimuksista ja tärkeimmistä tähänastisista havainnoista ja tuodaan esiin ehdotetut molekyylimekanismit NM:n aiheuttaman isännän alttiuden taustalla, haasteet, rajoitukset ja tulevaisuuden tutkimustarpeet. Käsiteltyjä mekanismeja ovat muun muassa NM:ien ja biologisten molekyylien välinen suora vuorovaikutus, hahmontunnistusreseptorien (PRR) ja niihin liittyvien signaalireittien aktivoituminen, oksidatiivisen stressin ja mitokondrioiden toimintahäiriöiden tuottaminen, inflammasomien aktivoituminen ja lipidisignaaliverkostojen modulointi.

**Tulos**

Nanomateriaalien vaikutukset virusinfektioon

**Esimerkki 1.237**

- Sovellamme tiedon luokittelumenetelmää ja onnistumme luokittelemaan rahoitusmarkkinat. - Tutkimme Yhdysvaltojen ja Kiinan osakeindeksien samankaltaisuutta Aasian valuuttakriisin ja maailmanlaajuisen finanssikriisin aikana. - Eri osakeindeksien fylogeneettiset puut esitetään ja ne tarjoavat ilmeisen ilmiön. Kirjoituksessa sovelletaan pääasiassa tiedon luokittelumenetelmää rahoitusalan aikasarjojen analysointiin. Menetelmää käytetään erilaisten sarjojen samankaltaisuuden tutkimiseen laskemalla niiden väliset etäisyydet. Sovellamme tätä menetelmää eri osakemarkkinoiden samankaltaisuuden kvantifioimiseen. Ja raportoimme tämän menetelmän avulla Yhdysvaltain ja Kiinan osakemarkkinoiden samankaltaisuuden tulokset ajanjaksoilla 1991-1998 (ennen Aasian valuuttakriisiä), 1999-2006 (Aasian valuuttakriisin jälkeen ja ennen maailmanlaajuista finanssikriisiä) ja 2007-2013 (maailmanlaajuisen finanssikriisin aikana ja sen jälkeen). Tulokset osoittavat, että eri osakemarkkinoiden samankaltaisuudessa on eroja eri ajanjaksoina ja että näiden kahden kriisin jälkeen osakemarkkinoiden samankaltaisuus on kasvanut. Saamme myös tulokset 10 osakeindeksin samankaltaisuudesta kolmella alueella; se tarkoittaa, että menetelmällä voidaan erottaa eri alueiden markkinat fylogeneettisistä puista. Tulokset osoittavat, että tällä menetelmällä voidaan saada tyydyttävää tietoa rahoitusmarkkinoista. Tietojen luokittelumenetelmää voidaan käyttää paitsi fysiologisissa aikasarjoissa myös taloudellisissa aikasarjoissa.

**Tulos**

Physica A Taloudellinen aikasarja-analyysi tiedon luokittelumenetelmän perusteella

**Esimerkki 1.238**

Interferonin indusoima transmembraaniproteiini 3 (IFITM3) on laajalti ekspressoitunut tehokas isännän synnynnäisen immuunijärjestelmän viruksenvastainen tehoaine. Se rajoittaa erilaisten patogeenisten, vaipallisten virusten joukkoa häiritsemällä endosomaalista fuusiota. Tässä raportissa kloonattiin sian IFITM3-geeni (sIFITM3). Sillä on ihmisen ortologinsa kanssa yhteinen toiminnallisesti konservoitu CD225-domeeni ja useita kriittisiä aminohappojäännöksiä (Y19, F74, F77, R86 ja Y98), jotka ovat välttämättömiä viruksenvastaisen aktiivisuuden kannalta. SIFITM3:n ektooppinen ilmentyminen esti merkittävästi suu- ja sorkkatautiviruksen (FMDV) tarttumista BHK-21-soluissa. Lisäksi sIFITM3 esti FMDV-infektion viruksen elinkaaren varhaisissa vaiheissa häiritsemällä viruksen kiinnittymistä isäntäsolun pintaan. Tärkeää on, että 2 päivän ikäisten imettävien hiirten rokottaminen sIFITM3:a ilmentävällä plasmidilla antoi suojan tappavaa suu- ja sorkkatautivirusta vastaan. Nämä tulokset viittaavat siihen, että sIFITM3 on lupaava viruslääke, joka voi suojella isäntää FMDV-infektiolta.

**Tulos**

Sian interferonin indusoima transmembraaniproteiini, sIFITM3, estää suu- ja sorkkatautiviruksen infektiota in vitro ja in vivo.

**Esimerkki 1.239**

Suuren läpimenon sekvensoinnista (HTS) on tulossa huipputekniikka mikrobi-isolaattien tyypityksessä, erityisesti kliinisissä näytteissä. Sen soveltaminen elintarvikkeiden seurantaan ja tautipesäkkeiden tutkimiseen on kuitenkin vielä lapsenkengissä. Seuraavassa tarkastellaan julkaistua kirjallisuutta, joka kattaa bakteerien lisäksi myös virus- ja eukaryoottiset elintarvikepatogeenit, ja arvioidaan HTS:n täytäntöönpanon tilannetta ja mahdollisuuksia sidosryhmien informoimiseksi, elintarviketurvallisuuden parantamiseksi ja tautipesäkkeiden vaikutusten vähentämiseksi. Sekvensointitekniikan ja bioinformatiikan kehitys on ollut nopeampaa kuin kyky analysoida ja tulkita sekvenssitietoja. Näytteiden käsittelyn, nukleiinihapon uuttamisen ja puhdistamisen, tietojen tuottamista ja tulkintaa koskevien yhdenmukaistettujen protokollien sekä asianmukaisesti annotoitujen ja kuratoitujen vertailutietokantojen, mukaan luettuina muut kuin patogeeniset "luonnolliset" kannat, vaikutus on toinen merkittävä este HTS:n täyden potentiaalin hyödyntämiselle analyyttisessä elintarvikevalvonnassa, epidemiologisissa tutkimuksissa ja taudinpurkausten tutkimuksissa sekä elintarvikkeista peräisin olevien patogeenien torjuntaa ja hallintaa koskevien ennaltaehkäisevien toimintatapojen täydentämisessä. Merkittävistä esteistä huolimatta viime vuosikymmenen aikana saavutettu edistys kapasiteetin parantamisessa ja sovellusalueen laajentamisessa on vaikuttavaa ja ennennäkemätöntä, kuten kirjallisuudesta valitut esimerkit osoittavat. Suuret yhteenliittymät, joissa on usein laaja kansainvälinen osallistuminen, pyrkivät koordinoidusti selviytymään monista mainituista esteistä. Nopeaa edistystä voidaan siis odottaa myös seuraavalle vuosikymmenelle.

**Tulos**

Suuren läpimenon sekvensointi elintarvikkeiden välityksellä tarttuvien taudinaiheuttajien havaitsemiseksi

**Esimerkki 1.240**

Lepakot ovat tunnetusti monien uusien tartuntatautien kantajia, niillä on ainutlaatuisia ekologisia markkinarakoja ja niitä esiintyy maailmanlaajuisesti Etelämannerta lukuun ottamatta. Kun otetaan huomioon niiden vaikutus ihmisten ja maatalouden terveyteen, on ratkaisevan tärkeää ymmärtää mekanismeja, jotka ovat tämän reservoari-isännän immunokompetenssin taustalla. Tähän mennessä on tehty vain vähän tutkimuksia, joissa on tutkittu immuunijärjestelmän toimintaa Chiroptera-luokassa, erityisesti lepakoiden luonnollisissa kolonioissa. Fytohemagglutiniini-ihotestiä (PHA) on käytetty laajalti viivästyneen soluvälitteisen immuunivasteen mittaamiseen monilla selkärankaisilla, ja sitä on käytetty rutiininomaisesti immunoekologisissa tutkimuksissa. Vaikka testiä kuvataan usein T-solujen proliferaation mittarina, viimeaikaiset tutkimukset osoittavat, että se saattaa edustaa immuunivasteiden yhdistelmää. Nisäkkäillä immuunivaste on eri tavoin, ajallisesti ja alueellisesti säännelty, ja siksi luonnehdimme lepakoiden soluttautuvien leukosyyttien vastetta PHA-ihotestiin tutkimalla 41 brasilialaisen vapaapyrstölepakon (Tadarida brasiliensis) PHA- ja suolaliuosinjektioalueiden histologisten leikkeiden aikasarjaa. Tulokset viittaavat siihen, että lepakoilla on monipuolista leukosyyttien liikennettä 6 tunnin ja jopa 24 tunnin kuluessa ihonalaisesta PHA-ruiskeesta. PHA-ruiskutetuissa kudoksissa havaittiin merkittävästi lymfosyyttejä ja neutrofiilejä sekä eosinofiilejä, basofiilejä ja makrofageja verrattuna suolaliuoksella ruiskutettuihin kontrollikudoksiin. Havaittiin erittäin merkittävä negatiivinen korrelaatio lymfosyyttien ja neutrofiilien lukumäärän välillä PHA-ruiskutetussa kudoksessa; lymfosyyttien vasteen huippu oli 12 tunnin kuluttua ja neutrofiilien vasteen huippu 24 tunnin kuluttua injektiosta. Nämä tulokset osoittavat, että yksilöiden immuunivasteessa on huomattavaa vaihtelua, ja ne voivat auttaa ymmärtämään tautien syntymistä luonnollisissa lepakkopopulaatioissa.

**Tulos**

Histologinen arviointi soluvälitteisestä immuunivasteesta fytohemagglutiniinin ihotestissä brasilialaisilla vapaapyrstölepakoilla (Tadarida brasiliensis).

**Esimerkki 1.241**

Cochlosoma anatisin mtDNA:n 16S-geenin 1520 bp:n alueesta tehtiin DNA-sekvensointi, ja 466 bp:n osuutta verrattiin muihin alkueläinten 16S-sekvensseihin, jotta voitiin kehittää C. anatisille spesifisiä PCR-alukkeita. Tämä PCR-diagnostiikkamenetelmä mahdollisti C. anatis -bakteerin tunnistamisen kotikärpäsistä, Musca domestica L:stä, kalkkunan suolistosta ja ulostenäytteistä 6 tunnin kuluessa siitä, kun kentältä kerätyt näytteet saapuivat laboratorioon. C. anatis -bakteeria kantavat kotikärpäset, jotka havaittiin 374 bp:n diagnostisten amplikonien avulla, olivat ensimmäiset merkinnät tämän alkueläimen esiintymisestä kotikärpäsissä. #

**Tulos**

Molekyylimääritys Cochlosoma anatis -bakteerin osoittamiseksi kotikärpäsistä ja kalkkunanäytteistä polymeraasiketjureaktiolla

**Esimerkki 1.242**

Cyprinus herpesvirus 3 (CyHV-3) kuuluu uuteen Alloherpesviridae-virusperheeseen Herpesvirales-järjestyksessä. CyHV-3 on ollut osallisena useissa karppipopulaatioiden taudinpurkauksissa, jotka ovat aiheuttaneet jopa 100 prosentin kuolleisuuden. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tutkia kolesterolirikkaiden lipidisäiliöiden vaatimusta CyHV-3:n pääsyssä ja replikaatiossa karppisoluissa. Plasmakalvon kolesteroli poistettiin karpin aivosoluista (CCB) metyyli-b-syklodekstriinillä (MbCD). Käsitellyt ja käsittelemättömät solut infektoitiin CyHV-3:lla, ja viruksen sitoutumista ja infektioparametreja arvioitiin RT-qPCR:n, immunosytokemian ja virustitrauksen avulla. Kolesterolin vähentämisen vaikutus hidasti vakavasti viruksen pääsyä in vitro, mutta kolesterolin täydennyksen jälkeen viruksen pääsy ja sen jälkeinen replikaationopeus olivat kuitenkin samanlaisia kuin kontrolliinfektiossa. Kolesterolin vähentäminen ei myöskään vaikuttanut merkittävästi viruksen sitoutumiseen ja sitä seuraavaan sisäänpääsyn jälkeiseen replikaatiovaiheeseen, mutta sillä oli kuitenkin vaikutusta viruksen ulostuloon. CyHV-3- ja CCB-kalvofraktioiden lipidikoostumusten vertaileva analyysi paljasti voimakkaita yhtäläisyyksiä CyHV-3- ja CCB-lipidilauttojen lipidikoostumusten välillä. Tässä esitetyt tulokset osoittavat, että kolesterolirikkaat lipidilautat ovat tärkeitä CyHV-3:n replikaatiosyklin kannalta erityisesti sisään- ja ulostulon aikana.

**Tulos**

Kolesterolirikkailla lipidilaatoilla on tärkeä rooli Cyprinid herpesvirus 3:n replikaatiosyklissä $ $.

**Esimerkki 1.243**

Kaakkois-Aasia on uusien zoonoosien kriisipesäke, ja lepakoiden on todettu olevan isäntiä monille zoonoosiviruksille, kuten akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS), joka aiheuttaa akuutin hengitystieoireyhtymän puhkeamisia. Näin ollen on tärkeää laajentaa tietämystämme lepakoissa esiintyvistä viruksista, jotka voivat aiheuttaa riskin ihmisille. Koronaviruksia (CoV) on raportoitu lepakkoeläinlajeissa Thaimaasta, Kiinasta, Indonesiasta, Taiwanista ja Filippiineiltä. Kambodžassa tai Laosin demokraattisessa kansantasavallassa ei kuitenkaan ole tehty vastaavaa työtä. Vuosina 2010-2013 näissä kahdessa maassa otettiin siksi näytteitä 1965 lepakosta, jotka olivat kosketuksissa ihmispopulaatioiden kanssa. Niitä testattiin koronaviruksen esiintymisen varalta konsensusmenetelmällä käänteisen transkriptio-PCR-määrityksellä. Yhteensä 93 näytettä (4,7 %) 17 lepakosuvusta testattiin positiivisiksi. Sekvenssianalyysi paljasti 37 ja 56 alfa-koronavirukseen (αCoV) ja beeta-koronavirukseen (βCoV) kuuluvaa koronavirusta. βCoV-ryhmään tiedetään kuuluvan joitakin ihmiselle erittäin patogeenisiä koronaviruksia, kuten SARS-CoV ja MERS-CoV. Kaikki frugivoreista lepakoista (Pteropodidae-heimo) saadut koronavirussekvenssit (n = 55) klusteroituivat muiden D-linjan lepakoiden βCoV-virusten kanssa, kun taas yksi Pipistrellus coromandra -lepakosta saatu koronavirus kuului βCoV-virusten C-linjaan, johon kuuluu myös MERS-CoV. Kaikki αCoV:t havaittiin hyönteissyöjälepakoiden eri sukukunnissa, ja ne klusteroituivat aiemmin julkaistujen erilaisten lepakoiden αCoV-sekvenssien kanssa. PEDV:n läheistä sukua oleva kanta, joka aiheuttaa sikojen vakavaa ripulia (PEDV-CoV), havaittiin kahdessa Myotis-lepakossa. Korostimme Kambodžan ja Laosin demokraattisen kansantasavallan lepakoissa kiertävien koronavirusten esiintymistä ja suurta monimuotoisuutta. Kolme uutta lepakkosukua ja -lajia, nimittäin Macroglossus sp., Megaerops niphanae ja Myotis horsfieldii, tunnistettiin äskettäin koronavirusten isänniksi.

**Tulos**

Koronavirusten geneettinen monimuotoisuus lepakoissa Laosin demokraattisessa kansantasavallassa ja Kambodžassa.

**Esimerkki 1.244**

Nisäkkäiden reovirukset ja rotavirukset ovat kehittäneet erityisiä mekanismeja kiertääkseen tyypin I interferonin (IFN) antiviraalisen vasteen. Rotavirus todennäköisesti tukahduttaa IFN-vasteen ainakin neljällä mekanismilla. Ensinnäkin rotavirusproteiini NSP1, joka todennäköisesti toimii E3-ligaasina, voi indusoida proteasomista riippuvaista transkriptiotekijöiden IRF3, IRF5 ja IRF7 hajoamista estääkseen IFN:n induktion. Toiseksi NSP1 voi indusoida ubikitiiniligaasikompleksin proteiinin β-TrCP:n proteasomi-riippuvaista hajoamista, mikä johtaa IκB:n stabiloitumiseen ja siihen, että virus ei pysty aktivoimaan NF-κB:tä IFN:n induktiota varten. Kolmanneksi rotavirus saattaa sekventoida NF-κB:tä viroplasmoissa. Neljänneksi rotavirus voi estää STAT1:n ja STAT2:n ydintranslokaation. Vallitseva mekanismi, jolla rotavirukset estävät IFN-vastetta, on todennäköisesti sekä rotaviruskantakohtainen että solutyyppikohtainen. Myös nisäkkäiden reoviruksissa on kantakohtaisia eroja IFN-vasteen moduloinnissa. Reovirus aktivoi RIG-I:n ja IPS-1:n IRF3:n fosforylaatiota varten. Reoviruksen aiheuttama MDA5:n aktivaatio osallistuu myös IFN-β:n induktioon, ehkä NF-κB:n aktivaation kautta. Reovirus todennäköisesti estää IFN-vasteen ainakin 3 viruskantakohtaisella mekanismilla. Ensinnäkin reoviruksen μ2-proteiini voi indusoida IRF9:n epätavallisen ydinkertymän ja tukahduttaa IFN-stimuloidun geenin (ISG) ilmentymisen, todennäköisesti häiritsemällä IRF9:n toimintaa osana heterotrimeeristä transkriptiotekijäkompleksia, ISGF3:a. Toiseksi, reoviruksen σ3-proteiini voi sitoa dsRNA:ta ja estää latentin antiviraalisen efektoriproteiinin PKR:n aktivoitumisen. Kolmanneksi geneettiset lähestymistavat ovat osoittaneet, että reoviruksen λ2- ja σ2-proteiinit vaikuttavat viruskantakohtaisesti IFN-vasteen modulaatioon, mutta niiden merkitys on edelleen epäselvä. Yhteenvetona voidaan todeta, että Reoviridae-heimon jäsenet ovat kehittäneet erilaisia mekanismeja isännän synnynnäisen suojavasteen kumoamiseksi. Yue Z, Shatkin AJ. 1997. Kaksisäikeisestä RNA:sta riippuvaista proteiinikinaasia (PKR) säätelevät reoviruksen rakenneproteiinit. Virology 234(2):364-371. Zurney J, Howard KE, Sherry B. 2007. IFNAR- ja Jak-STAT-komponenttien perusekspressiotasot määrittävät solutyyppispesifisiä eroja sydämen antiviraalisissa vasteissa. J Virol 81(24):13668-13680. Zurney J, Kobayashi T, Holm GH, Dermody TS, Sherry B. 2009. Reoviruksen mu2-proteiini estää interferonin signalointia uudella mekanismilla, johon liittyy interferonin säätelytekijä 9:n ydinkertymä. J Virol 83 (5):2178-2187.

**Tulos**

Rotavirus ja reovirus Interferonivasteen modulointi

**Esimerkki 1.245**

Hiirillä plasmasytoidiset dendriittisolut (pDC) ja luonnolliset tappajasolut (NK) vaikuttavat molemmat osaltaan vastustuskykyyn herpesvirusten, kuten hiiren sytomegaloviruksen (MCMV), systeemisiä infektioita vastaan. pDC:t ovat tärkein tyypin I IFN:n (IFN-I) lähde MCMV-infektion aikana. Tämä vaste edellyttää pDC:n sisäistä MyD88-riippuvaista Toll-Like-reseptorien 7 ja 9 kautta tapahtuvaa signalointia. Edellyttäen, että ne ilmentävät sopivia tunnistamisreseptoreita, kuten Ly49H:ta, NK-solut voivat suoraan havaita ja tappaa MCMV-infektoituneita soluja. Minkä tahansa näistä vasteista menettäminen lisää alttiutta infektiolle. Näiden viruksen vastaisten immuunivasteiden suhteellinen merkitys ja niiden välinen yhteys ovat kuitenkin edelleen epäselviä. Ihmisillä IFN-I-vasteet ovat välttämättömiä, mutta MyD88 on välttämätön viruksen vastaisen immuniteetin kannalta. Näin ollen on ehdotettu suurempaa redundanssia mekanismeissa, jotka edistävät suojaavia immuunivasteita herpesvirusten aiheuttamia systeemisiä infektioita vastaan luonnollisten infektioiden aikana ihmisillä. On oletettu, mutta ei todistettu, että hiiret eivät pysty muodostamaan suojaavia MyD88:sta riippumattomia IFN-I-vasteita. Ihmisillä MyD88:n puutetta kompensoivaa mekanismia ei ole selvitetty. Näiden kysymysten ratkaisemiseksi vertailimme MCMV-infektion vastustuskykyä ja immuunivasteiden kehittymistä hiirikantojen välillä, joilla on puutteita MyD88:n, IFN-I-reseptorin ja/tai Ly49H:n suhteen. Osoitamme, että pDC:n valikoiva vähentäminen tai MyD88:n tai TLR9:n geneettiset puutokset vähensivät huomattavasti IFN-I:n tuotantoa, mutta eivät suojaavia viruslääkkeellisiä vasteita. Lisäksi MyD88:n, mutta ei IFN-I-reseptorin, puute voitiin suurelta osin kompensoida Ly49H:n välittämillä antiviraalisilla NK-soluvasteilla. Näin ollen, vastoin nykyistä opinkappaletta, mutta johdonmukaisesti ihmisten tilanteen kanssa, voimme päätellä, että hiirillä kokeellisissa asetuksissamme MyD88 on tarpeeton IFN-I-vasteiden ja yleisen puolustuksen kannalta systeemistä herpesvirusinfektiota vastaan. Lisäksi tunnistimme infektoituneiden solujen suoran NK-solujen havaitsemisen yhdeksi mekanismiksi, joka pystyy PLOS Pathogens |

**Tulos**

Luonnollisten tappajasolujen havaitseminen tartunnan saaneista soluista kompensoi MyD88:n puutteen, mutta ei IFN-I-aktiivisuutta hiiren sytomegaloviruksen vastustuskyvyssä.

**Esimerkki 1.246**

Brazzein-proteiini on peräisin syötävästä hedelmästä, jolla on pitkä historia Afrikan paikallisessa ihmisravinnossa. Mahdollisena kaupallisena makeutusaineena käytettävän bratszeiinin houkuttelevia ominaisuuksia ovat sen pieni koko (53 aminohappojäännöstä), sen stabiilisuus laajoilla lämpötila- ja pH-alueilla sekä sen makeuden samankaltaisuus sakkaroosin kanssa. Bratszeiinin heterologista tuotantoa vaikeuttaa se, että proteiinissa on neljä disulfidisiltaa ja se vaatii erityisen N-terminaalisen sekvenssin. Aiempaan protokollaamme proteiinin tuottamiseksi Escherichia coli -bakteerista sisältyi useita vaiheita, joiden kokonaistuotos oli alhainen: ilmentäminen fuusioproteiinina, denaturointi ja renaturointi, kysteiinien hapettaminen ja pilkkominen syanobromidilla halutun N-terminaalin vieressä sijaitsevasta metioniinista. Tässä kuvatussa uudessa protokollassa, joka on paljon nopeampi ja johtaa natiiviproteiinin suurempaan saantoon, brazzeiinia tuotetaan E. coli -bakteerissa fuusiona SUMO:n kanssa. Eristetty proteiinituote sisältää brazzeiinidomeenin, joka on taittunut oikeilla disulfidisidoksilla, ja se pilkotaan sitten spesifisellä SUMO-proteaasilla natiivin brazzeiinin vapauttamiseksi. Tämä protokolla on tärkeä edistysaskel, joka mahdollistaa tehokkaamman tutkimuksen bratszeiinin ja reseptorin välisestä vuorovaikutuksesta sekä tutkimukset, joilla testataan bratszeiinin mahdollisuuksia kaupallisesti käyttökelpoisena luonnollisena vähäkalorisena makeutusaineena.

**Tulos**

Tehokas ja nopea proteiinin ilmentäminen ja puhdistus pienestä, runsaasti disulfidia sisältävästä makeasta proteiinista brazzeinista E. coli -bakteerissa.

**Esimerkki 1.247**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen 2 (SARS-CoV-2) aiheuttama COVID-19-pandemia riehuu kaikkialla maailmassa, ja sen kuolleisuus on 3,4 prosenttia. SARS-CoV-2:n nukleokapsidiproteiini (nCoVN) on potentiaalinen rokotteen ja hoidon kohde, ja sen tehtävänä on pakata viruksen genomi ja viruksen itsensä kokoaminen. Jotta voitaisiin tutkia nCoVN:n biologista vaikutusta ihmisen indusoituihin pluripotentteihin kantasoluihin (iPSC), geneettisesti muunnetut iPSC:t, jotka yliekspressoivat nCoVN:ää (iPSC-nCoVN), tuotettiin lentivirus-ekspressiojärjestelmillä. Odottamatta iPSC:n morfologia ja proliferaatiovauhti muuttuivat sen jälkeen, kun nCoVN:ää oli ilmentänyt kaksi viikkoa. Pluripotenssimarkkereita SSEA4 ja TRA-1-81 ei ollut havaittavissa iPSC-nCoVN:ssä. Samalla iPSC-nCoVN menetti kykynsä erilaistua sydänlihassoluiksi, kun käytettiin rutiininomaista erilaistamisprotokollaa. Tietojemme mukaan nCoVN häiritsi iPSC:n pluripotentteja ominaisuuksia ja muutti ne fibroblasteiksi, mikä antoi uuden näkemyksen SARS-CoV-2:n patogeenisesta mekanismista.

**Tulos**

SARS-CoV-2:n nukleokapsidiproteiini poisti ihmisen indusoitujen pluripotenttien kantasolujen pluripotenttiuden.

**Esimerkki 1.248**

Tässä asiakirjassa esitellään joidenkin yksinkertaisten matemaattisten mallien käyttöä taudin dynamiikan tutkimiseen pandemiatilanteessa ja keskitytään influenssaan. Näitä malleja käytetään erilaisten rokotusten ja viruslääkehoidon avulla toteutettavien torjuntaohjelmien tehokkuuden arviointiin. Käytämme tavallisista differentiaaliyhtälöistä koostuvia alttius-, tartunta- ja toipumistyyppisiä epidemian leviämismalleja. Näiden mallien avulla voimme johtaa kynnysehdot, joita voidaan käyttää rokotteiden ja lääkkeiden käytön tehokkuuden arvioimiseen ja taudin lopputulosten määrittämiseen. Simuloinneista on hyötyä tarkasteltaessa torjuntavaihtoehtojen mahdollisia seurauksia eri skenaarioissa. Erityisesti verrataan vakioparametreilla varustettujen mallien ja ajasta riippuvaisilla parametritoiminnoilla varustettujen mallien tuloksia, mikä osoittaa, että mallien tuloksissa on merkittäviä eroja. Tulokset viittaavat siihen, että rokotusten ja lääkehoidon tehokkuus voi olla hyvin herkkä tekijöille, kuten patogeenin saapumisajankohdalle populaatioon, torjuntaohjelmien alkamisajankohdalle ja torjuntatoimenpiteiden tasolle. Vielä tärkeämpää on se, että joissakin tapauksissa rokotusten ja viruslääkkeiden käytön hyödyt saattavat vaarantua merkittävästi, jos näitä torjuntaohjelmia ei suunnitella asianmukaisesti. Matemaattiset mallit voivat olla erittäin hyödyllisiä, kun halutaan ymmärtää eri tekijöiden vaikutuksia tartuntatautien leviämiseen ja torjuntaan. Erityisesti mallit voivat auttaa tunnistamaan rokotusten ja lääkehoidon mahdolliset haittavaikutukset influenssapandemian yhteydessä.

**Tulos**

Teema: Rokotusten ja hoidon vaikutusten mallintaminen influenssapandemian yhteydessä.

**Esimerkki 1.249**

Limakalvoilla rokottaminen on suuri etu, sillä se saa aikaan suojaavan immuunivasteen, joka estää viruksen tarttumisen ja leviämisen. Tässä raportoimme havainnoistamme, jotka koskevat kahden virusvektorin, modifioidun vaccinia Ankaran (MVA) ja uuden replikaatiokompetentin modifioidun rokotteen, modifioidun vaccinia Tian Tanin (MVTT), vertailua neutraloivien vasta-aineiden (Nabs) indusoimiseksi lihaksensisäisellä ja limakalvo-rokotuksella hiirissä. MVTT on heikennetty muunnos villityyppisestä VTT:stä, jota on historiallisesti käytetty isorokkorokotteena miljoonille kiinalaisille. SARS-CoV:n piikkiglykoproteiinia (S) käytettiin testiantigeeninä sen jälkeen, kun S-geeni oli rakennettu kahden vektorin identtiseen genomiseen sijaintiin rokotekandidaattien MVTT-S ja MVA-S tuottamiseksi. Käyttämällä identtisiä annoksia MVTT-S aiheutti lihaksensisäisellä inokulaatiolla pienempiä (,2-3-kertaisia) SARS-CoV:n vastaisten neutraloivien vasta-aineiden (Nabs) määriä kuin MVA-S. MVTT-S pystyi kuitenkin aiheuttamaan 20-100-kertaisesti korkeampia Nabs-tasoja kuin MVA-S, kun se injektoitiin joko intranasaalisesti tai intraoraalisesti. Nämä MVTT-S:n aiheuttamat Nab-vasteet olivat huomattavasti (,10-kertaiset) korkeammat kuin lihaksensisäisen reitin kautta samoissa kokeissa. Lisäksi altistuminen villityyppiselle VTT:lle intranasaalisesti tai suunsisäisesti heikensi Nab-vastetta samoilla MVTT-S-rokotusreiteillä todennäköisesti jo olemassa olevan VTT:n vastaisen Nab-vasteen vuoksi. Intranasaalisen tai intraoraalisen rokotuksen teho oli kuitenkin edelleen 20-50-kertainen lihaksensisäiseen inokulaatioon verrattuna huolimatta ihonalaisesta esialtistuksesta villityyppiselle VTT:lle. Tietomme vaikuttavat ihmisiin, joilla on alhaiset VTT:n vastaisten Nabs-pitoisuudet historiallisen isorokkorokotuksen jälkeen. MVTT on näin ollen houkutteleva elävä virusvektori limakalvorokotuksiin.

**Tulos**

Uusi replikaatiokykyinen MVTT-rokotevektori on MVA:ta parempi, kun halutaan saada aikaan korkea neutraloivan vasta-aineen määrä limakalvojen rokottamisen avulla.

**Esimerkki 1.250**

Kaikkialla maailmassa lapset ja aikuiset kärsivät vakavasti akuutista gastroenteriitistä, jonka aiheuttaa yksi uusista suolistopatogeeneistä, rotavirus C (RVC). Tällä hetkellä Intiassa ei ole käynnissä RVC:n laajaa seurantaohjelmaa, ja sen esiintyvyys on suurelta osin tuntematon lukuun ottamatta paikallisia taudinpurkauksia. Tarkoituksenamme oli havaita RVC:n esiintyminen Haldwanissa (Uttarakhandin osavaltio, Intia), Himalajan juurella sijaitsevassa kaupungissa, sairaaloissa käyvissä tai sairaalahoitoon otetuissa ripulilapsissa. Vuosina 2010-2013 seuloimme 119 näytettä RVC:n varalta RVC VP6 -geenispesifisellä RT-PCR:llä. Näistä 38 (31,93 %) todettiin positiivisiksi, mikä on korkeampi kuin tähän mennessä Intiasta raportoidut esiintyvyysluvut. Yhdestä ihmisen RVC-(HuRVC)-isolaatista (HuRVC), jonka nimeksi tuli HuRVC/H28/2013/Intia, saatujen nukleotidisekvenssien fylogeneettinen analyysi osoitti, että tutkimusisolaatti kuuluu RVC:n rakennegeenien 6 ja 4 (VP6 ja VP4) genotyyppiin I2, P2 ja E2 ja ei-rakennegeenin 4 genotyyppiin (NSP4). Lisäksi HuRVC/H28/2013/India-entsyymin VP6-geenillä on suurin samankaltaisuus Intiasta hiljattain raportoidun ihmisen kaltaisen sian RVC:n (PoRVC/ASM140/2013/India, KT932963) kanssa, mikä viittaa zoonoottiseen tartuntaan. Raportoimme myös Intiasta peräisin olevan ihmisen RVC:n NSP4-geenin kokopituuden. Yhden terveydenhuollon järjestelmien puitteissa on tarpeen käynnistää yhdistettyjä ihmisten ja eläinten RVC:n valvontaohjelmia, jotta RVC-infektioiden epidemiologiaa voitaisiin ymmärtää paremmin ja jotta valvontastrategioita voitaisiin toteuttaa.

**Tulos**

C-lajin rotavirukset Intiassa ripulitautia sairastavilla lapsilla: Mahdollisesti laiminlyöty syy akuuttiin gastroenteriittiin.

**Esimerkki 1.251**

CEACAM1-signalointireitin estäminen on äskettäin todettu uudeksi mekanismiksi syövän immunoterapiassa. CC1:tä, hiiren anti-CEACAM1-monoklonaalista vasta-ainetta (mAb), on käytetty laajalti farmakologisena välineenä prekliinisissä tutkimuksissa CEACAM1-reitin biologian selvittämiseksi, vaikka sen CEACAM1:n esto-ominaisuuksista tai farmakodynaamis-farmakokineettisistä profiileista on vain vähän tietoa. Pyrimme tutkimaan CEACAM1:n ilmentymistä hiiren kasvain- ja immuunisoluissa, luonnehtimaan CC1:n mAb:n sitoutumista ja arvioimaan CC1:tä syngeenisissä hiiren onkologisissa malleissa monoterapiana ja yhdessä anti-PD-1 mAb:n kanssa. CEACAM1:n ilmentymistä havaittiin runsaasti neutrofiileissä, NK-soluissa ja myelooisissa suppressorisoluissa (MDSC), kun taas kasvaimeen tunkeutuvissa CD8+ T-soluissa ilmentyminen oli vähäistä. Odottamatta CC1 pikemminkin helpotti kuin esti liukoisen CEACAM1:n sitoutumista CEACAM1:tä ilmentäviin soluihin. CT26-, MBT2- tai A20-malleissa ei havaittu kasvainvastaista vaikutusta, kun testattiin 30 mg/kg:n annokseen asti, jonka arvioitiin saavuttavan > 90 %:n sitoutumisen kohteeseen in vivo. Kaiken kaikkiaan kasvaimeen tunkeutuvat CD8+ T-solut ilmentävät alhaisia CEACAM1-pitoisuuksia ja CC1 Ab:llä ei ole kasvainvastaista vaikutusta tai se on minimaalinen in vivo monoterapiana tai yhdistettynä PD-1-vastaiseen hoitoon.

**Tulos**

Hiiren CEACAM1:n karakterisointi in vivo paljastaa alhaisen ilmentymisen CD8+ T-soluissa eikä anti-CEACAM1 mAb CC1:llä ole kasvaimen kasvua säätelevää vaikutusta.

**Esimerkki 1.252**

Shigelloosi, bakteeriperäinen punatauti, liittyy läheisesti ihmisten ripuliin, ja se aiheuttaa vuosittain 165 miljoonan ihmisen tartunnan maailmanlaajuisesti. Enterobakteerien kaseiinia hajottava seriiniproteaasi-autotransporter of enterobacteriaceae (SPATE) -alaperheen SigA-proteiini, joka on ulkokalvoproteiini, vaikuttaa sekä sytopaattisesti että enterotoksisesti, erityisesti sytopaattisesti ihmisen epiteelisolujen tyyppi 2:een (HEp-2), ja sen on osoitettu olevan erittäin immunogeeninen. Tässä tutkimuksessa olemme yrittäneet soveltaa rokotinomiikan lähestymistapaa yhteisen peptidirokotekandidaatin suunnittelemiseksi Shigella spp:n immunogeenista SigA:ta vastaan. Ensin arvioitiin 44 SigA-proteiinia S. flexneri, S. dysenteriae, S. boydii ja S. sonnei -bakteerien eri muunnoksista, jotta löydettäisiin antigeenisin proteiini. Haimme 12 peptidiä, jotka perustuivat korkeimpaan pistemäärään ihmisen leukosyyttiantigeenin (HLA) supertyypeille, jotka analysoitiin NetCTL:llä. Aluksi näiden peptidien affiniteetti MHC-luokan I ja II alleeleihin arvioitiin, ja valittiin neljä mahdollista ydinsäteepitooppia VTARAGLGY, FHTVTVNTL, HTTWTLTGY ja IELAGTLTL. Näistä FHTVTVNTL- ja IELAGTLTL-peptideillä osoitettiin olevan 100 prosentin säilyvyys. Lopuksi IELAGTLTL:llä osoitettiin olevan suurin väestöpeitto (83,86 %) koko maailman väestöstä. Ehdotetun epitoopin in vivo -tutkimus saattaa edistää toiminnallisen ja ainutlaatuisen laajalle levinneen rokotteen kehittämistä, joka voisi olla toimiva keino torjua punatautia maailmasta.

**Tulos**

Vaccinomics-lähestymistapa mahdollisen peptidirokotteen suunnittelemiseksi Shigella spp. seriiniproteaasi-autotransporter-alatyypin SigA-proteiiniin kohdistamalla.

**Esimerkki 1.253**

Ehdotetaan uudenlaista ilmankuivausjärjestelmää. Ehdotetussa järjestelmässä kalvopohjainen kokonaislämmönvaihdin liitetään mekaaniseen ilmankuivausjärjestelmään, jossa raitisilma virtaa entalpiavaihtimen, höyrystimen ja lauhduttimen läpi. Yhdistetyn järjestelmän suorituskyvyn arvioimiseksi tutkitaan termodynaamista mallia. Raitisilman ja kylmäaineen prosesseja tutkitaan. Kylmäaineen R134a psykrometristen ja termodynaamisten ominaisuuksien laskemista varten on laadittu kaksi erityisohjelmaa. Vuotuinen energiantarve on 4,15 Â 10 6 kJ henkilöä kohti eli 33 prosentin säästö verrattuna järjestelmään, jossa ei ole energiansäästötoimenpiteitä. #

**Tulos**

Uudenlaisen ilmankuivausjärjestelmän termodynaaminen mallintaminen

**Esimerkki 1.254**

Taustaa: D 3 -vitamiinilisä (10 000 kansainvälistä yksikköä viikossa) verrattuna lumelääkkeeseen ja kurlaaminen verrattuna kurlaamattomuuteen voisivat ehkäistä virusperäisiä, kliinisiä ylähengitystieinfektioita yliopisto-opiskelijoilla. Menetelmät: Satunnaistimme 600 opiskelijaa neljään hoitohaaraan: 1) D 3 -vitamiini ja kurlaaminen, 2) lumelääke ja kurlaaminen, 3) D 3 -vitamiini ja kurlaaminen ilman kurlaamista ja 4) lumelääke ja kurlaaminen ilman kurlaamista. Opiskelijat täyttivät viikoittaiset sähköiset kyselyt ja toimittivat itse kerätyt nenälihaksen keskeltä kerätyt nenälihaksen pyyhkäisynäytteet syys- ja lokakuun aikana vuosina 2010 tai 2011. Oireilevat opiskelijat täyttivät myös sähköisen oirepäiväkirjan. Ensisijainen ja toissijainen tulos oli oireisen kliinisen virtsatietulehduksen ja laboratoriossa vahvistetun virtsatietulehduksen esiintyminen. Tulokset: 600 osallistujasta 471 (78,5 %) täytti kaikki kyselyt ja 43 (7,2 %) ei täyttänyt yhtään kyselyä. 150 (25,0 %) ilmoitti kliinisestä URTI:stä. Seitsemänkymmentä osallistujaa (23,3 %), jotka satunnaistettiin D 3 -vitamiinille, ilmoitti kliinisestä URTI:stä verrattuna 80:een (26,7 %), jotka satunnaistettiin lumelääkkeelle (RR:0,79, CI 95 :0,61-1,03, p = 0,09). Kahdeksankymmentäviisi kurlaukseen satunnaistettua osallistujaa (28,3 %) raportoi kliinistä URTI:tä verrattuna 65 osallistujaan (21,7 %), jotka oli satunnaistettu kurlausta välttävään ryhmään (RR:1,3, CI 95 :0,92-1,57, p = 0,19). Laboratoriokokeissa todettiin 70 infektiota (46,7 infektiota 100 URTI:tä kohti). D 3 -vitamiinihoitoon liittyi merkitsevästi pienempi riski saada laboratoriossa vahvistettu URTI (RR: 0,54, CI 95 :0,34-0,84, p = 0,007) ja merkitsevästi alhaisempi keskimääräinen viruskuorma mitattuna log 10 viruskopiona/ml (keskimääräinen ero: -0,89, CI 95 :-1,7, -0,06, p = 0,04). Vähemmän kurlausta käyttäviä opiskelijoita sai laboratoriossa vahvistetun URTI:n, mutta tämä ei ollut tilastollisesti merkitsevää (RR: 0,82, CI 95 :0,53-1,26, p = 0,36). Päätelmät: Nämä tulokset viittaavat siihen, että D3-vitamiini on lupaava interventio URTI:n ehkäisemiseksi. D 3 -vitamiini vähensi merkittävästi laboratoriossa vahvistetun URTI:n riskiä ja saattaa vähentää kliinisten infektioiden riskiä. Tutkimuksen rekisteröinti: Kliinisten tutkimusten rekisteröinti: NCT01158560.

**Tulos**

D3-vitamiini ja kurlaaminen ylähengitystieinfektioiden ehkäisemiseksi: satunnaistettu kontrolloitu tutkimus

**Esimerkki 1.255**

Gastroenteriitti voi aiheuttaa vakavia häiriöitä, kun monet ihmiset ovat poissa töistä tai koulusta. Sairaus voi olla hengenvaarallinen erityisesti hyvin nuorilla ja hyvin vanhuksilla. Mikrobitartuntoihin liittyvän gastroenteriitin torjunta on siksi tärkeä osa ennaltaehkäisevää lääketiedettä. Laboratoriotutkimukset ovat tarpeen, jotta voidaan selvittää tautipesäkkeen lähde, määrittää, tarvitaanko kemoterapiaa, kuten esimerkiksi Giardia lamblia -infektiossa, ja tunnistaa infektioiden pitkän aikavälin muutokset, jotka liittyvät muuttuneisiin ruokailutottumuksiin ja muihin sosiaalisiin tekijöihin. Tässä katsauksessa kiinnitämme huomiota moniin tartunnanaiheuttajiin, jotka on otettava huomioon gastroenteriittitapausten ja -epidemioiden tutkimisessa. Ulostenäytteiden tutkiminen mikrobiologian laboratoriossa on muuttumassa yhä monimutkaisemmaksi ja edellyttää uusien tekniikoiden käyttöä aiemmin tuntemattomien bakteeri-, virus- ja alkueläinperäisten gastroenteriitin aiheuttajien löytämiseksi, mukaan luettuina viimeisten kahden vuosikymmenen aikana kampylobakteeri, Clostridiurn difficile, rotavirus, Norwalkin virus ja kryptosporidium. Nämä tutkimukset ovat kuitenkin kalliita, ja koska säästöpaineet kasvavat, on ensiarvoisen tärkeää, että käytettävissä olevia resursseja hyödynnetään parhaalla mahdollisella tavalla. Tätä varten annamme suosituksia niistä tiedoista, jotka olisi liitettävä laboratorioon toimitettaviin uloste- ja muihin näytteisiin, jotka on otettu gastroenteriittitapausten yhteydessä.

**Tulos**

Gastroenteriitin tutkiminen: Merseysiden kokemukset 1983-1987

**Esimerkki 1.256**

Virusinfektio indusoi GLTSCR2-proteiinin translokaation ytimestä sytoplasmaan, mikä johtaa tyypin I interferonin IFN-b:n heikentymiseen. GLTSCR2:n roolia viruksen replikaatiossa käsitellessämme havaitsemme, että GLTSCR2:n tyrmääminen shRNA:lla johtaa viruksen replikaation merkittävään tukahduttamiseen nisäkäs- ja kanasoluissa. GLTSCR2-spesifisen shRNA-1370:n ruiskuttaminen kanan alkioon samanaikaisesti tai 24 tuntia ennen Newcastlen tautiviruksen (NDV) tartuntaa vähentää merkittävästi viruksen replikaatiota kanan alkion fibroblasteissa. ShRNA-1370:n ruiskuttaminen kanan alkioon vähentää myös lintuinfluenssaviruksen (AIV) replikaatiota. Sitä vastoin GLTSCR2:sta peräisin oleva proteiini G4-T, joka muodostaa ahelikaalisia dimeerejä, lisää seitsemän eri DNA- ja RNA-viruksen replikaatiota soluissa. Tutkimuksemme paljastavat, että solujen GLTSCR2:n toiminnan muuttamisella on merkitystä virusten replikaation tukemisessa. GLTSCR2:ta olisi vakavasti harkittava terapeuttisena kohteena laajakirjoisten viruslääkkeiden kehittämiseksi virusinfektioiden tehokkaaseen hallintaan.

**Tulos**

Soluproteiini GLTSCR2: Arvokas kohde laajakirjoisten viruslääkkeiden kehittämiseksi.

**Esimerkki 1.257**

Herpes simplex -virusinfektioita (HSV-infektioita) voidaan hoitaa suoravaikutteisilla viruslääkkeillä, kuten asikloviirilla ja foskarnetilla, mutta pitkäaikainen käyttö voi johtaa lääkeresistenssiin, mikä motivoi tutkimaan laajavaikutteisia viruslääkkeitä, jotka voivat muodostaa suuremman geneettisen esteen resistenssille. Fotodynaamisessa inaktivoinnissa (PDI) käytetään valoherkistettä, valoa ja happea, jotta mikro-organismeja inaktivoivia reaktiivisia happilajeja syntyisi paikallisesti. Orthoquin TM -kasviuute on voimakas valonherkistäjä, jolla on antimikrobisia ominaisuuksia. Tässä raportoimme, että Orthoquinilla on myös antiviraalisia ominaisuuksia. Valoaktivoitu Orthoquin esti herpes simplex -viruksen tyypin 1 (HSV-1) ja herpes simplex -viruksen tyypin 2 (HSV-2) infektion kohdesoluissa annosriippuvaisesti laajalla sub-sytotoksisten pitoisuuksien alueella. HSV:n inaktivointi edellytti Ortokiinin ja inokulumin suoraa kosketusta, kun taas kohdesolujen esikäsittelyllä ei ollut vaikutusta. Ortokiini ei aiheuttanut merkittävää vahinkoa viruskapsideille eikä viruksen genomin ennenaikaista vapautumista, kuten HSV-1-genomin qPCR:llä mitattiin. Sitä vastoin HSV-1-antigeenien immunoblottaus puhdistetuissa virionivalmisteissa viittasi siihen, että suuremmilla annoksilla Ortoquinilla oli tiettyihin HSV-1-proteiineihin fysikaalinen vaikutus, joka muutti proteiinien liikkuvuutta tai antigeenin havaitsemista. Ortokiini PDI esti myös päällystämätöntä adenovirusta (AdV) annosriippuvaisesti, kun taas päällystetyn vesikulaarisen stomatiittiviruksen (VSV) Ortokiinivälitteinen esto oli valosta riippumaton. Yhdessä nämä havainnot viittaavat siihen, että Ortokiinivälitteisen PDI:n laajat antiviraaliset vaikutukset voivat johtua viruksen kiinnittymisproteiinien vaurioitumisesta. helpottaa kiinnittymistä ja pääsyä isäntäsoluihin. Vaikka HSV-1 ja HSV-2 ovat samankaltaisia, niillä on vain 55 prosentin nukleotidi-identiteetti. Solun lyyettinen HSV-infektio alkaa ensimmäisellä kiinnittymisellä negatiivisesti varautuneisiin solun pinnan heparaanisulfaatti- ja kondroitiinisulfaattiglykaneihin, jota seuraa viruksen glykoproteiinien vakaa kiinnittyminen solun pinnan reseptoreihin ja viruskuoren fuusioituminen plasmakalvoon tai sisäisiin kalvoihin [2] . Virus- ja isäntäkalvojen fuusio mahdollistaa viruksen nukleokapsidin ja kuoriproteiinien kulkeutumisen sytoplasmaan. Kun HSV:n nukleokapsidi on saapunut ytimeen ja toimittanut viruksen genomin, HSV:n geenit ilmentyvät järjestäytyneessä ajallisessa kaskadissa. Viruksen ulostulo edellyttää genomin sisältävän kapsidin primaarista koteloitumista ytimen sisäiseen kalvoon, fuusioitumista ytimen ulkoiseen kalvoon ja lopullista koteloitumista trans-Golgi-verkostoon. Kypsät virionit poistuvat sitten solun eritysjärjestelmän kautta. Kaikki HSV:n replikaatiokierron vaiheet tarjoavat potentiaalisia kohteita suoravaikutteiselle viruslääkehoidolle. DAA-hoitoa voi kuitenkin heikentää lääkkeille resistenttien mutanttivirusten syntyminen. HSV:n DAA-lääkkeet asikloviiri ja foskarnet ovat esimerkkejä lääkeresistenssin vaaroista. Nämä lääkkeet keskeyttävät HSV:n genomin replikaation eri vaikutusmekanismeilla. Asikloviiri on nukleosidianaloginen aihiolääke, joka kohdistuu valikoivasti HSV-infektoituneisiin soluihin HSV:n tymidiinikinaasi-entsyymin (TK) vaikutuksesta, joka fosforyloi asikloviirin tehokkaasti ja helpottaa HSV:n DNA-polymeraasientsyymin sisällyttämistä syntymässä olevaan virus-DNA:n genomiin; asikloviirin sisällyttäminen virus-DNA:han lopettaa genomin replikaation [3]. Pyrofosfaattianalogi foskarnet sen sijaan estää viruksen genomin replikaation estämällä suoraan HSV:n DNA-polymeraasiaktiivisuutta [4] . Vaikka asikloviiriresistenssiä esiintyy vähän (≤ 1 %) immuunipotilailla [5], immuunipuutteisilla potilailla resistenssiä esiintyy paljon enemmän (4-10 %) [6] . Ei ole yllättävää, että resistenssi asikloviirille ja sen johdannaisille sekä foskarnetille on yhdistetty mutaatioihin viruksen tymidiinikinaasissa ja DNA-polymeraasin katalyyttisessä alayksikössä [7] . Tällä hetkellä Abreva (n-dokosanoli) on ainoa käsikauppalääke herpes labialiksen hoitoon. Abreva imeytyy solujen plasmakalvoon ja estää fuusiovaiheet, jotka ovat välttämättömiä HSV-1:n pääsylle epiteelisoluihin [8] . Sitä on kuitenkin käytettävä toistuvasti päivän mittaan, koska plasmakalvo vaihtuu nopeasti ja n-dokosanoli häviää sen seurauksena [9] . Tämä isäntään kohdistuva viruslääkemekanismi estää virusresistenssin kehittymisen, mutta Abreva on hyväksytty vain perioraalisiin leesioihin, joten muiden kehon alueiden leesioiden hoidossa on vielä puutteita. Abrevan tavoin on mahdollista kehittää laajemmin vaikuttavia viruslääkkeitä, jotka hyödyntävät HSV-virionin fyysistä rakennetta ja estävät infektion varhaisvaiheet, kuten kiinnittymisen ja tunkeutumisen. Tässä tutkimuksessa selvitimme kasviperäisen valoherkistävän aineen Orthoquin TM:n mahdollisuuksia välittää virionien fotodynaamista inaktivointia (PDI) [10]. Orthoquinin PDI:n kliininen hyöty suun biofilmeissä on aktiivisen tutkimuksen kohteena, ja sillä on selvä potentiaali laajempiin kliinisiin sovelluksiin. PDI:n perustana on fotodynaaminen vaikutus, jota on hyödynnetty fotodynaamisessa terapiassa (PDT) [11, 12] syövän [13] ja ikään liittyvän makuladegeneraation [14] hoidossa. PDT:ssä valonherkistävät yhdisteet reagoivat näkyvän valon kanssa hapen kanssa tuottaen reaktiivisia happilajeja (ROS), joihin kuuluu singlettihappea [15] . ROS vahingoittaa proteiineja, nukleiinihappoja ja lipidejä, mikä voi johtaa solukuolemaan. Jotkin tunnetuimmista PDT:ssä käytettävistä valonherkistävistä molekyyleistä perustuvat tetrapyrroliseen ytimeen, ja niitä esiintyy luonnossa esiintyvissä pigmenteissä, kuten hemessä, klorofyllissä ja bakteeriklorofyllissä [16] . Tämäntyyppisten fotosensitisaattoreiden hyväksytty fototoksinen mekanismi käsittää valon absorption yhteydessä tapahtuvan kiihdytetyn triplettitilan muodostumisen, joka voi osallistua elektronin (tyyppi 1) tai energian (tyyppi 2) siirtoprosesseihin. Tyypin 1 elektroninsiirtoreaktiot johtavat tyypillisesti radikaalilajien, kuten superoksidin tai hydroksyyliradikaalien, muodostumiseen, kun taas tyypin 2 energiansiirto tuottaa sytotoksista singlettihappea. Valonherkistimen on mahdollista käynnistää samanaikaisesti sekä tyypin 1 että tyypin 2 valoprosessit riippuen valonherkistävän aineen ja sen ympäristön erityiskemiasta [16] . Hapettavien molekyylien suuren reaktiivisuuden ja lyhyen eliniän vuoksi odotetaan, että vain aktivoituneiden fotosensitisoivien yhdisteiden läheisyydessä oleviin virusrakenteisiin kohdistuu vaikutuksia.

**Tulos**

Herpes simplex -virusten fotodynaaminen inaktivointi

**Esimerkki 1.258**

Paramyxovirusinfektioita voidaan havaita maailmanlaajuisesti joidenkin uusien zoonoosivirusten yhteydessä, eikä moniin näistä taudeista ole tällä hetkellä saatavilla erityisiä terapeuttisia hoitoja tai rokotteita. Viimeaikaiset tutkimukset ovat osoittaneet, että paramyxoviruksen fuusioproteiinien kahdesta heptadi-toistoalueesta (HR1 ja HR2) peräisin olevia peptidejä voitaisiin käyttää virusfuusion estäjinä. Tämän vaikutuksen taustalla oleva mekanismi vastaa luokan I virusfuusioproteiinien mekanismia, johon ihmisen immuunikatoviruksen (HIV) ja influenssaviruksen fuusioproteiinit kuuluvat. Luokan I virusfuusioproteiineissa HR1-fragmentti sitoutuu HR2:een muodostaen kuuden kierteisen nipun, jossa kolme HR1-fragmenttia muodostaa keskimmäisen kierteisen nipun, jota ympäröi kolme kierteistä HR2-fragmenttia fuusion jälkeisessä konformaatiotilassa (fuusioydin). On oletettu, että eksogeeninen HR1 tai HR2 voi kilpailla endogeenisten vastineidensa kanssa, mikä johtaa fuusion estymiseen. Newcastlen tautivirusta (NDV) mallina käyttäen suunnittelimme useita proteiini-inhibiittoreita, joita nimitetään HR212:ksi sekäHR121:ksi ja 5-Helixiksi ja jotka voivat sitoutua fuusioproteiinin HR1- tai HR2-alueeseen. Kaikki proteiinit ekspressoitiin ja puhdistettiin käyttämällä GST-fuusio-ekspressiojärjestelmää Escherichia coli -bakteerissa. HR212- tai GST-HR212-proteiini, joka sitoo HR1-peptidiä in vitro, osoitti inhiboivaa aktiivisuutta NDV-välitteistä solufuusiota vastaan, kun taas HR121- ja 5-Helix-proteiinit, jotka sitovat HR2-peptidiä in vitro, estivät viruksen fuusioitumisen avirulentista NDV-kannasta, kun niitä lisättiin ennen fuusioproteiinin pilkkomista. Nämä tulokset osoittivat, että suunnitellut HR212-, HR121- tai 5-Helix-proteiinit voivat toimia spesifisinä viruslääkkeinä. Nämä tiedot antavat lisätietoa NDV:n virulenttien ja avirulenttien kantojen välisestä erosta. q 2005 Published by Elsevier Ltd. (2005).

**Tulos**

Newcastlen tautiviruksen fuusioon kohdistuvien virusperäisten polypeptidi-inhibiittorien suunnittelu ja karakterisointi

**Esimerkki 1.259**

Lyhin yhteinen superjono -ongelmassa kysytään, mikä on lyhin merkkijono, joka on tietyn merkkijonojoukon jokaisen jäsenen superjono. Sillä on sovelluksia muun muassa datan pakkauksessa ja oligonukleotidimikrotaulujen valmistuksessa. Ongelma on NP-vaikea, ja olemassa olevat tarkat ratkaisut ovat epäkäytännöllisiä suurille tapauksille. Tässä artikkelissa ehdotetaan ongelmalle uutta säteenhakualgoritmia, jossa käytetään todennäköisyysheuristiikkaa ja dominanssiominaisuutta hakuavaruuden karsimiseen. Ehdotettua algoritmia verrataan kolmeen hiljattain ehdotettuun algoritmiin, joita on ehdotettu tätä ongelmaa varten sekä satunnaisilla että biologisilla sekvensseillä, ja se päihittää ne kaikki tarjoamalla nopeasti keskimääräisesti laadukkaampia ratkaisuja kaikissa kokeellisissa tapauksissa. Ehdotetun IBS\_SCS-algoritmin Java-lähde- ja binääritiedostot ja DR-algoritmin toteutuksemme sekä kaikki tässä artikkelissa käytetyt satunnaiset ja todelliset tietokokonaisuudet ovat vapaasti saatavilla pyynnöstä.

**Tulos**

Bahri), f.tabataba@ec.iut.ac.ir (F.S. Tabataba).

**Esimerkki 1.260**

Enterovirus D68 (EV-D68) on uusi taudinaiheuttaja, joka aiheutti hiljattain laajan vakavan hengitystiesairauden puhkeamisen Yhdysvalloissa ja muissa maissa. EV-D68-viruksen ja isäntäsolujen välisestä suhteesta tiedetään vain vähän. Tässä tutkimuksessa arvioimme isäntäsolusyklin vaikutusta EV-D68-viruksen tuotantoon sekä EV-D68:n kykyä manipuloida isäntäsolusyklin etenemistä. Tulokset viittaavat siihen, että synkronointi G0/G1-vaiheessa, mutta ei S-vaiheessa, edistää virustuotantoa, kun taas synkronointi G2/M-vaiheessa estää virustuotantoa. Sekä varhainen EV-D68-isolaatti että nykyisin kiertävät EV-D68-kannat voivat manipuloida isännän solusykliä pysäyttääkseen solut G0/G1-vaiheeseen, mikä tarjoaa suotuisat olosuhteet virustuotannolle. EV-D68:n solusyklin säätelyyn liittyi vastaavia vaikutuksia sykliinien ja CDK:iden ilmentymiseen, jotka havaittiin proteiini- ja/tai mRNA-tasolla. Lisäksi EV-D68:n viruksen ei-rakenteellinen proteiini 3D estää etenemisen G0/G1:stä S:ään. Mielenkiintoista on, että toinen Picornaviridae-heimon jäsen EV-A71 eroaa EV-D68:sta siinä, että G0/G1-synkronisaatio pikemminkin estää kuin edistää EV-A71:n viruksen replikaatiota. Nämä virukset ovat kuitenkin samankaltaisia siinä mielessä, että G2/M-synkronointi estää molempien virusten tuotantoa ja aktiivisuutta, mikä viittaa yhteiseen terapeuttiseen kohteeseen molemmille enterovirustyypeille. Nämä tulokset selventävät enterovirusten patogeenisiä mekanismeja entisestään ja tarjoavat mahdollisen strategian EV-D68:aan liittyvien tautien hoitoon ja ehkäisyyn.

**Tulos**

Ihmisen enterovirus 68 häiritsee isännän solusykliä helpottaakseen virustuotantoa.

**Esimerkki 1.261**

Akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä (ARDS) voi liittyä erilaisiin sairauksiin. Näistä koronavirusinfektio voi aiheuttaa hengenvaarallisen vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS). Tässä katsauksessa esitellään eläinmalleja ja -tekniikoita ARDS:n tutkimiseksi ja käsitellään erilaisten kemiallisten tekijöiden, kuten typpioksidin (NO), roolia ja mahdollisia mekanismeja. Varhainen työmme paljasti, että aivojen puristus aiheuttaa vakavan hemorragisen keuhkoödeeman (PE), joka johtaa keskussympaattiseen sympaattiseen aktivaatioon, joka johtaa systeemiseen vasokonstriktioon. Systeemisen vasokonstriktion seurauksena keuhkoverenkierrossa on tilavuus- ja painekuormitus. Vasodilataattorit, mutta eivät hapetusradikaalien pelastuslääkkeet, ovat tehokkaita sentrogeenisen PE:n ehkäisyssä. Eristetyissä perfusoiduissa keuhkoissa eksogeeninen ja endogeeninen NO lisää keuhkovaurioita ilmaembolian ja iskemia/reperfuusion jälkeen. Sitä vastoin NO-syntaasin (NOS) estäjät kumoavat tällaisen keuhkovaurion. Vaikka NO on tärkeä verisuonia laajentavan tonuksen ylläpitämisessä, hypoksian aiheuttamaan keuhkovaskonstriktioon liittyy NO:n vapautumisen lisääntyminen eikä väheneminen. Eläinkokeissa ja eristetyissä keuhkotutkimuksissa endotoksiini aiheuttaa akuutin keuhkovaurion, johon liittyy sytokiinien ja indusoituvan NOS-mRNA:n ilmentymisen lisääntyminen, mikä viittaa siihen, että NO on keuhkoille myrkyllinen endotoksiinishokissa. Olemme hiljattain raportoineet useista harvinaisista tapauksista, jotka osoittavat, että ARDS japanilaista B-enkefaliittia, rintasyöpään liittyvää lymfangiittia ja rasvaemboliaa sairastavilla potilailla aiheutuu erilaisista mekanismeista. Varhaiset ja viimeaikaiset tutkimuksemme ARDS:stä ja PE:stä voivat antaa tietoa kliinistä käytäntöä ja SARSin patogeneesin ymmärtämistä varten.

**Tulos**

Biolääketieteen katsaus Akuutti hengitysvaikeusoireyhtymä

**Esimerkki 1.262**

Keräsimme seeruminäytteet 50 terveeltä verenluovuttajalta (kohortti A) negatiivisina kontrolleina Sanquin Blood Bank (Rotterdam, Alankomaat) hankki kirjallisen suostumuksen tutkimuskäyttöön. Arvioimme spesifisyyttä käyttämällä kohortteja B ja C, jotka koostuivat 145 seeruminäytteestä potilailta, jotka oli RT-PCR:llä vahvistettu positiivisiksi ihmisen hengitystieinfektioiden suhteen. Näytteisiin sisältyi näytteitä henkilöiltä, jotka olivat hiljattain saaneet 13 eri hengitystieviruksen tai akuutin IgM-positiivisen CMV- ja EBV-infektion, joiden tiedetään olevan ristireaktiivisia serologisissa määrityksissä, sekä Mycoplasma pneumoniae -viruksen. Koska MERS:llä ei ole patognomonisia merkkejä, jotka erottaisivat sen muista hengitystieinfektioista, akuuttien muiden kuin H-CoV:n aiheuttamien hengitystieinfektioiden spesifisyyden arvioimiseksi akuuteissa tapauksissa käytettiin kohorttia B, johon kuului 85 näytettä. Spesifisyyden arvioimiseksi tarkemmin kohortti C sisälsi seeruminäytteitä akuuteista ja toipuvista HCoV-NL63-, 229E ja -OC43-potilaista. Lisäksi arvioimme kohortteja D-G eri alustojen herkkyyden arvioimiseksi. Serologisesti tunnistetut MERS-CoV-tartunnan saaneet lievät ja oireettomat henkilöt, joilla oli kamelikontakti (D1), ja terveet luovuttajat (D2) Qatarista, jotka oli luonnehdittu aiemmassa tutkimuksessa (1), muodostivat kohortin D. Positiivisina kontrolleina ja vasta-ainekinetiikan arvioimiseksi käytettiin kahden Alankomaihin tuodun, RT-PCR-diagnosoidun MERS-CoV-tapauksen (2) sarjaseeruminäytteitä; nämä olivat 15 seeruminäytettä potilaalta 1, jotka olivat 4-228 päivää diagnoosin toteamisen jälkeen, ja 13 seeruminäytettä potilailta 2, joiden pituus oli 1-44 päivää diagnoosin toteamisen jälkeen (pvm). Nämä 28 näytettä luokiteltiin kohortteihin E (<14 dpd, akuutti vaihe) ja F (>14 dpd, toipilasvaihe).

**Tulos**

Matala-asteisten vasta-ainevasteiden herkkä ja spesifinen havaitseminen seeruminäytteistä otetuissa lievissä Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirusinfektioissa.

**Esimerkki 1.263**

Amyloidifibrillien muodostumista on tutkittu pitkään, koska on olemassa monia proteiineja, jotka pystyvät omaksumaan tämän rakenteen, vaikka niillä on vain vähän sekvenssihomologiaa. Tämä tekee amyloidifibrilleistä haastavan kohteen estotutkimuksille, koska amyloidifibrillejä muodostavia peptidejä ja proteiineja ei voida kohdistaa sekvenssimotiivin perusteella. Useimmat peptidi-inhibiittorit, jotka kohdistuvat tiettyihin amyloidogeenisiin proteiineihin, perustuvat vahvasti sekvenssin tunnistamiseen sen varmistamiseksi, että inhiboiva peptidi pystyy sitoutumaan kohteeseensa. Tämä lähestymistapa rajoittuu vain yhden amyloidogeenisen proteiinin kohdentamiseen kerrallaan. Amyloidia muodostavien polypeptidien välisestä ristireaktiivisuudesta on kuitenkin yhä enemmän näyttöä. Sen vuoksi on tullut entistä hyödyllisemmäksi tutkia näiden proteiinien välisiä yhtäläisyyksiä, jotka ylittävät niiden sekvenssihomologian. Havainto siitä, että amyloidogeeniset proteiinit omaksuvat samankaltaisia sekundäärirakenteita fibrillien muodostumisen tiellä, avaa tien mielenkiintoiselle tutkimukselle: sellaisten inhibiittorien kehittämiselle, jotka voisivat olla universaaleja amyloidien ansoja. Jäljempänä olevassa katsauksessa analysoidaan kahta erityistä amyloidogeenistä proteiinia, α-synukleiinia ja ihmisen amyliinia, ja esitellään pieni määrä peptidejä, joiden on osoitettu kykenevän estämään näiden molempien hyvin erilaisten polypeptidien amyloidogeneesiä. Joitakin inhiboivia peptidimotiiveja voidaan todellakin soveltaa Aβ:hen ja muihin amyloidogeenisiin järjestelmiin.

**Tulos**

Esistrukturoidut hydrofobiset peptidien β-säikeet: Universaali amyloidilukko?

**Esimerkki 1.264**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) kuoriproteiinin (E-proteiini) kanssa vuorovaikutuksessa olevien proteiinien analysoimiseksi tehtiin SARS-CoV, joka sisälsi kaksi E-proteiiniin liittyvää tunnistetta. Tämän viruksen avulla SARS-CoV E:n ja muiden proteiinien kompleksit puhdistettiin tandem-affiniteettipuhdistusjärjestelmällä. Useat virus- ja soluproteiinit, kuten piikki, kalvo, ei-rakenteellinen proteiini 3 (nsp3), dyneiinin raskas ketju, rasvahapposyntaasi ja transmembraaniproteiini 43, sitoivat E-proteiinia. Tässä työssä keskityimme E-proteiinin sitoutumiseen nsp3:een infektoiduissa soluissa ja soluvapaissa järjestelmissä. Tätä vuorovaikutusta välitti nsp3:n N-terminaalinen hapan domeeni. Lisäksi nsp3 ja E-proteiini kolokaloituivat infektion aikana. Osoitettiin, että E-proteiini ubikitoitui in vitro ja soluviljelmissä, mikä viittaa siihen, että nsp3:n ja E-proteiinin välisellä vuorovaikutuksella voi olla merkitystä E-proteiinin ubikitinaatiotilanteeseen ja siten sen vaihtuvuuteen.

**Tulos**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen kuoriproteiini on vuorovaikutuksessa ei-rakenteellisen proteiinin 3 kanssa ja ubikvitinoituu.

**Esimerkki 1.265**

HIV-1 Tat-proteiini on tärkeä patogeeninen tekijä HIV-1:n aiheuttamissa neurologisissa sairauksissa. Yksi keskushermoston (CNS) HIV-1-infektion tunnusmerkki on astrosytoosi, jolle on ominaista astrosyyttien kohonnut GFAP-ekspressio. Olemme osoittaneet, että Tat aktivoi GFAP:n ilmentymistä astrosyyteissä (Zhou, et al., Mol. Cell. Neurosci. 27:296, 2004) ja että GFAP on tärkeä Tatin neurotoksisuuden säätelijä (Zou, et al., Am. J. Pathol. 171:1293 , 2007 . Tat-välitteisen GFAP:n ylössäätelyn taustalla olevia mekanismeja ei kuitenkaan tunneta. Tässä tutkimuksessa raportoimme adenovirus E1a-assosioituneen 300 kDa:n proteiinin p300 ja GFAP:n samanaikaisesta ylössäätelystä Tatia ekspressoivissa ihmisen astrosytoomasoluissa ja primaarisissa astrosyyteissä. Osoitimme, että Tat-ekspressio ja HIV-1-infektio todella indusoivat p300:a ja että induktio tapahtui transkriptiotasolla sen promoottorissa olevien varhaisen kasvuvasteen 1 (Egr-1) cis-vaikutteisten elementtien kautta. SiRNA:n avulla osoitimme lisäksi, että p300 sääteli sekä konstitutiivista että Tat-välitteistä GFAP-ekspressiota. Lisäksi osoitimme, että p300:n ektooppinen ilmentyminen tehosti Tatin transaktivaatioaktiivisuutta ja lisäsi HIV-1-infektoituneiden astrosyyttien proliferaatiota, mutta vaikutti vain vähän HIV-1:n replikaatioon näissä soluissa. Yhdessä nämä tulokset osoittavat ensimmäistä kertaa, että Tat on p300:n ilmentymisen positiivinen säätelijä, joka puolestaan säätelee GFAP:n ilmentymistä, ja viittaavat siihen, että Tat-Egr-1-p300-GFAP-akseli vaikuttaa todennäköisesti Tatin neurotoksisuuteen ja altistaa astrosyytit HIV-1:n turvapaikaksi keskushermostossa.

**Tulos**

p300:n osallistuminen astrosyyttien gliafibrillaarisen happaman proteiinin konstitutiiviseen ja HIV-1 Tat-aktivoituun ilmentymiseen astrosyyteissä

**Esimerkki 1.266**

Taustaa: Rokotusjärjestelyt otettiin käyttöön vuonna 2005 Singaporessa sijaitsevan 1500-paikkaisen tertiäärisairaalan työntekijöiden influenssarokotusasteen parantamiseksi. Menetelmät: Paikan päällä tapahtuviin rokotusjärjestelyihin kuuluvat liikkuvat ryhmät kolmella kaukana sijaitsevalla osastolla ja saman palvelualueen rokottaminen neljällä palvelualueella työskenteleville työntekijöille. Tulokset: Influenssarokotusten määrä vuonna 2005 oli 66,4 % (verrattuna 56,8 %:iin vuonna 2004, odds ratio 1,50, 95 %:n luottamusväli 1,39-1,62). Niillä työntekijöillä, jotka osallistuivat paikan päällä tapahtuviin järjestelyihin, oli korkeampi influenssarokotusaste (97,0 %). Päätelmät: Rokotusjärjestelyt paikan päällä paransivat influenssarokotusten määrää sairaalan työntekijöiden keskuudessa. (Am J Infect Control 2007;35:481-3.)

**Tulos**

Influenssarokotusjärjestelyt paikan päällä paransivat influenssarokotusastetta Singaporessa sijaitsevan korkea-asteen sairaalan työntekijöillä.

**Esimerkki 1.267**

Tässä artikkelissa esitellään proteiinien sitoutumiskohtien luokittelu niiden taskuihin kohdistuvien fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien perusteella. Esittelimme hiljattain Cavbase-menetelmän, jolla voidaan kuvata ja vertailla proteiinien sitoutumistaskuja niiden aktiivisten paikkojen geometristen ja fysikaalis-kemiallisten ominaisuuksien perusteella. Tässä esitellään algoritmisia ja metodologisia parannuksia Cavbase-ominaisuuksien kuvaukseen ja onkaloiden vertailuvaiheeseen. Annamme esimerkkejä Cavbase-analyysin samankaltaisuusanalyysistä, jolla havaitaan huomattavia samankaltaisuuksia sekvenssiltään toisistaan riippumattomien proteiinien sitoutumiskohteissa. Samankaltaisuushaku, jossa SARS M pro -proteaasin alatukikohtia käytettiin kyselyinä, löysi ligandeja ja ligandifragmentteja, jotka olivat sijoitettu samanlaiseen fysikaalis-kemialliseen ympäristöön kuin kyselyssä. Tämä mahdollisti proteaasin tunnistustaskujen karakterisoinnin ja sellaisten molekyylirakenteiden tunnistamisen, jotka voidaan sisällyttää uusiin viruslääkkeisiin. Sitoutumistaskujen funktionaalista luokittelua varten toteutettiin klusterianalyysimenetelmä, joka kalibroitiin käyttäen erilaista joukkoa entsyymien sitoutumiskohtia. Kahta merkityksellistä proteiiniperhettä, a-karboanhydraaseja ja proteiinikinaaseja, käytetään osoittamaan klusterimenetelmämme laajuus. Ehdotamme molemmille proteiiniperheille merkityksellistä luokittelua niiden aktiivisten paikkojen sitoutumismotiivien perusteella. Luokittelu tarjoaa uuden näkökulman koko proteiiniperheen toiminnallisiin ominaisuuksiin, ja sen avulla voidaan korostaa tehon ja selektiivisyyden kannalta tärkeitä piirteitä. Lisäksi tätä tietoa voidaan käyttää tunnistamaan proteiinien välisiä mahdollisia ristireaktiivisuuksia, jotka johtuvat niiden sitoutumiskohtien samankaltaisuudesta.

**Tulos**

Proteiinien onteloiden samankaltaisuusanalyysistä proteiiniperheiden toiminnalliseen luokitteluun Cavbasea käyttäen Avainsanat: proteiinien sitoutumistaskut; proteiinien sitoutumistaskujen luokittelu; proteiinien sitoutumistaskujen klusterianalyysi; proteiinikinaasit; SARS-proteaasi

**Esimerkki 1.268**

Tutkimme kameleiden geneettistä monimuotoisuutta, maantieteellistä rakennetta, tartunnan esiintyvyyttä ja ikään liittyvää esiintyvyyttä suurimmassa Afrikasta Arabian niemimaalle saapuvien kameleiden tuontisatamassa. Menetelmät Tässä prospektiivisessa genomitutkimuksessa otimme nenänäytteitä Sudanista ja Djiboutista Jeddan satamaan Jeddassa, Saudi-Arabiassa, tuoduilta kameleilta lähes kahden vuoden ajan ja paikallisilta arabialaisilta kameleilta kahden kuukauden ajan sataman valvonnan jälkeisenä vuonna. Määritimme MERS-CoV-infektion esiintyvyyden, ikään liittyvät infektiomallit ja teimme fylogeografisia ja migraatioanalyysejä määrittääksemme viruksen siirtymisen maiden välillä paikallisen linjan vakiintumisen jälkeen. Vertailimme kaikkia virologisia ominaisuuksia paikallisten ja maahantuotujen kohorttien välillä. Vertailimme afrikkalaisten ja arabialaisten viruskantojen välisiä tärkeimpiä geenideleetioita. Lisääntymismäärät johdettiin Bayesin syntymä-kuolema-viivaanalyysien avulla. Keräsimme 10.8.2016 ja 3.5.2018 välisenä aikana näytteitä 1196 tuontikamelilta, joista 868 oli peräisin Sudanista ja 328 Djiboutista, ja 1.5.2018 ja 25.6.2018 välisenä aikana näytteitä 472 paikalliselta kamelilta, joista 189 oli kotoisin Riadista ja 283 Jeddahista Saudi-Arabiasta. Viruksen esiintyvyys oli suurempi paikallisilla kameleilla kuin tuontikameleilla (224 [47-5 %] 472:sta vs. 157 [13-1 %] 1196:sta; p<0-0001). Tartunnan esiintyvyys oli suurimmillaan yli vuoden ikäisillä ja enintään 2-vuotiailla kameleilla molemmissa ryhmissä, sillä 255 (66-9 %) 381 positiivisesta tapauksesta kuului tähän ikäryhmään. Vaikka viruksen yleinen maantieteellinen levinneisyys vastasi fylogeneettisen puun topologiaa, jonkin verran havaittiin virusten vaihtoa alueen kauppareittejä vastaavien maiden välillä. Itä- ja Länsi-Afrikan viruskannat näyttävät olevan maantieteellisesti erillään toisistaan, ja Länsi-Afrikan kannat ovat peräisin Itä-Afrikasta. Afrikkalaisista viruskannoista ei otettu uusia näytteitä Saudi-Arabiassa, vaikka näytteitä otettiin noin vuosi Afrikasta tuonnin jälkeen. Kaikki paikalliset arabianäytteet sisälsivät viruskantoja, jotka kuuluvat uuteen rekombinantti-klaadiin (NRC), joka havaittiin ensimmäisen kerran vuonna 2014 Saudi-Arabiassa. Sekvenssien perusteella tehdyt lisääntymislukuarviot viittaavat NRC:n jatkuvaan endeemisyyteen, ja keskimääräinen R e on 1-16. Tulkinta Vaikka MERS-CoV:tä tuodaan usein kamelien mukana Afrikasta, MERS-CoV:n afrikkalaiset linjat eivät vakiinnuta paikkaansa Saudi-Arabiassa. Arabialaiset viruskannat olisi testattava virulenssin ja tarttuvuuden muutosten varalta.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymäkoronaviruksen enzootiamallit afrikkalaisilla ja paikallisilla arabialaisilla dromedaarikameleilla: prospektiivinen genomitutkimus.

**Esimerkki 1.269**

Näkymä on keskeinen tekijä, joka vaikuttaa kiinteistön hintaan. Aiemmissa tutkimuksissa näkymä on kuvattu joko pelkällä kuvallisella kuvauksella tai melko kehittyneillä matemaattisilla menetelmillä. Molemmat estävät palkkion asianmukaisen jakamisen eri näköesteiden tasoille korkeissa ja tiheissä kaupunkiympäristöissä. Näkymän esteellisyystaso ja sovellettava palkkio ovat hyödyllistä tietoa kiinteistömarkkinoiden sidosryhmille optimaalisten päätösten tekemistä varten. Näin ollen on tarpeen kehittää yksinkertainen parametri näköesteen tason arvioimiseksi. Vaikka näkymää on vaikea määritellä, viitataan oikeustapauksiin, joissa näkymää koskevat riidat ratkaistaan usein päivänvalon estymisen perusteella. Varjostusmaskia käytetään yleensä arvioitaessa päivänvalon saatavuutta asunnon ulkopuolella, ja se on siten ihanteellinen parametri näköesteen arvioimiseksi. Varjostusmaskiarvojen (SMK) laskeminen on hyvin monimutkainen tehtävä, joka edellyttää huolellisia paikkatutkimuksia, 3D-luonnostelutaitoja ja tietokonesimulaatioita. Ne ovat liian työläitä sidosryhmille. Tässä asiakirjassa esitetään yhteenveto asiaankuuluvista näkökohdista ja tapaustutkimuksista, jotka on tehty esteettömän taivaan keskimääräisen kulman (q) määrittämiseksi yksinkertaiseksi parametriksi, joka edustaa keskimääräistä SMK-arvoa näköesteiden arvioimiseksi. Yksityiskohtaisella tietokonesimulointimenetelmällä määritetyn 708 tapaustutkimuksen asuintalon keskimääräisen SMK:n ja vastaavan esteettömän taivaankulman korrelaatioanalyysi osoitti, että jälkimmäistä voidaan käyttää näkymän estymisen arviointiin riittävän lähellä simulointiennusteita. Koska esteettömän taivaan keskimääräinen kulma voidaan helposti määrittää asuinkerrostalon geometristen peruspiirteiden perusteella, tämä voi mahdollistaa tulevaisuudessa palkkion myöntämisen eri näköesteellisyystasoille sidosryhmille.

**Tulos**

Yksinkertaistetun parametrin kehittäminen näköesteiden arvioimiseksi korkeissa ja tiheissä kaupunkiympäristöissä.

**Esimerkki 1.270**

Havainnot siitä, että lymfopenia on yleistä vakavaa akuuttia hengitystieoireyhtymää (SARS) sairastavilla potilailla ja että perifeerisen veren mononukleaariset solut (PBMC) voivat saada SARS-CoV-infektion, viittaavat siihen, että PBMC:stä voisi olla hyötyä toipuvien potilaiden geeniekspressioprofiilin tunnistamisessa ja isännän vasteen jäljittämisessä SARS-CoV-infektiolle. Tässä tutkimuksessa tutkittiin toipuvien SARS-potilaiden PBMC:n muuttuneita geeniekspressioita suppressiivisella subtraktiivisella hybridisaatiolla (SSH). Havaitsimme, että mitokondriaalisen DNA:n (mtDNA) koodaamat geenit olivat selvästi säänneltyjä, kun taas mitokondrioiden todettiin nyt olevan läheisessä yhteydessä virusimmuniteettiin. Virusgeenin, M:n, tunnistaminen SSH:n cDNA-kirjastosta osoittaa SARS-CoV:n pitkäaikaisen olemassaolon in vivo. Lisäksi jotkin hapetusstressille herkät geenit, lämpösokkiproteiinit, transkriptiotekijät ja sytokiinit osoittivat huomattavaa nousua. Ohutleikkauselektronimikroskooppi osoittaa lisääntynyttä lysosomin kaltaista granulaa ja mitokondrioita potilaiden PBMC:ssä. Nämä tulokset tarjoavat tärkeitä solunsisäisiä vihjeitä, joiden avulla voidaan jäljittää isännän vastetta SARS-CoV-infektioon, ja viittaavat mitokondrioiden rooliin tässä prosessissa.

**Tulos**

Mitokondriaalisen geeniekspression lisääntyminen toipuvien SARS-potilaiden PBMC:ssä.

**Esimerkki 1.271**

29 Taustaa: 2019 (COVID-19) kehittyy jatkuvasti. 30. Sen epidemiologiasta on kuitenkin vielä paljon epäselvyyksiä. 31 Tarkoitus: Syntetisoida vahvistettujen COVID-19-tapausten kuolemantapausten määrä, itämisaika 32 sekä aika COVID-19-oireiden alkamisesta ensimmäiseen lääkärikäyntiin, teho-osastolle pääsyyn, 33 toipumiseen ja kuolemaan COVID-19-tapauksissa. Tietojen synteesi: Tunnistetuista 1675 tutkimuksesta, joissa ei ollut päällekkäisyyksiä, otettiin mukaan 57 tutkimusta. Yhdistetty keskimääräinen itämisaika oli 5,84 (99 % CI: 4,83, 6,85) päivää. Yhteenlaskettu keskimääräinen päivien määrä COVID-19-oireiden 42 alkamisesta ensimmäiseen kliiniseen käyntiin oli 4,82 (95 % CI: 3,48, 6,15), teho-osastolle ottamiseen 43 10,48 (95 % CI: 9,80, 11,16), toipumiseen 17,76 (95 % CI: 12,64, 22,87) ja kuolemaan 44 15,93 (95 % CI: 13,07, 18,79). COVID-19:n aiheuttaman kuoleman yhdistetty todennäköisyys oli 0,02 (95 % 45 CI: 0,02, 0,03). 46 Rajoitukset: Tutkimukset ovat havainnointitutkimuksia, ja tulokset perustuvat pääasiassa tutkimuksiin, joissa 47 potilaat rekrytoitiin klinikoilta ja sairaaloista, joten ne voivat olla puolueellisia vakavampien tapausten suhteen. 48 Havaitsimme, että COVID-19:n itämisaika ja viive oireiden alkamisen ja diagnoosin 50 välillä on pidempi kuin muiden hengitystievirusinfektioiden, kuten MERS:n ja SARS:n; 51 . CC-BY-NC-ND 4.0 Kansainvälinen lisenssi Se asetetaan saataville lisenssillä on tekijä/rahoittaja, joka on myöntänyt medRxiville lisenssin esipainoksen esittämiseen ikuisesti. (jota ei ole vertaisarvioitu) Tämän esipainoksen tekijänoikeuden haltija .

**Tulos**

COVID-19:n epidemiologiset ominaisuudet; järjestelmällinen katsaus ja meta-analyysi 1

**Esimerkki 1.272**

Polyomavirusten (PyV) tiedetään tartuttavan monenlaisia selkärankaisia ja selkärangattomia eläimiä, ja ne liittyvät monenlaisiin sairauksiin, kuten syöpiin, erityisesti immuunipuutteisilla isännillä. Uusi polyomavirus, nimeltään rotan polyomavirus 2 (RatPyV2), tunnistettiin rottien kasvatusyhdyskunnasta, joilla oli X-kytkentäinen vaikea yhdistetty immuunipuutos. Ihmisen panpolyomaviruksen immunohistokemiallisella testillä (P-PIT) RatPyV2 havaittiin aluksi erään pesäkkeen jäsenen parotis-sylkirauhasesta. Rullaavan ympyrän monistuksessa, jossa käytettiin DNA:ta harderian- ja parotidirauhasista, tunnistettiin uusi 5,1 kilotavun kokoinen polyomaviruksen genomi, joka on läheistä sukua ihmisen Washingtonin yliopiston (WU) ja Karolinska-instituutin (KI) sekä myyrän polyomaviruksille, mutta poikkeaa huomattavasti Rattus norvegicus PyV1:stä (RnorPyV1; myös nimitys RatPyV1). Lisäseulonnassa todettiin RatPyV2-inskluusiokappaleen infektio keuhkoepiteelissä ja vaihtelevasti muissa hengitystie-, lisääntymis- ja rauhaskudoksissa 12/12 rotalla (100 %). TÄRKEYS Vaikka P-PIT kehitettiin tunnettujen ihmisen polyomavirusten aiheuttamien tautien havaitsemiseen, uuden polyomaviruksen tunnistaminen rotilla viittaa siihen, että se voi olla hyödyllinen laajapohjaisena seulontana sekä uusien että tunnettujen polyomavirusten varalta. Löydöksemme viittaavat siihen, että RatPyV2 voi olla laboratoriorottien vieraslaji, joka voi johtaa levinneeseen tautiin T-soluimmuunipuutteisilla rotilla. X-SCID-rottien infektio RatPyV2:lla ja Pneumocystis carinii:lla on potentiaalinen malli yhteisinfektion patogeneesin ja hoitovaihtoehtojen selvittämiseksi elinsiirtojen prekliinisissä tutkimuksissa.

**Tulos**

Uuden rotan polyomaviruksen 2 tunnistaminen ja karakterisointi X-SCID-rottien pesäkkeessä P-PIT-testillä.

**Esimerkki 1.273**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli arvioida vapaasti saatavilla olevan hapatetun maidonkorvikkeen ruokinnan vaikutuksia lypsävasikoiden ja vasikoiden terveyteen ennen vieroitusta ja vieroituksen jälkeen. Yksilöllisesti pidetyt vasikat jaettiin syntymähetkellä järjestelmällisesti yhteen kahdesta ruokintaohjelmasta: vapaasti saatavilla oleva (ad libitum) hapatetun maidonkorvikkeen ruokinta (ACD, n = 249) tai perinteinen rajoitettu (3 litraa kahdesti päivässä) maidonkorvikkeen ruokinta (RES, n = 249). Vasikoille syötettiin maidonkorvike, joka sisälsi 24 % raakavalkuaista ja 18 % rasvaa. Hapotettu maidonkorvike valmistettiin muurahaishapolla pH-arvoon 4,0-4,5. Vasikat vieroitettiin maidonkorvikkeesta noin 6 viikon iässä. Vieroitus kesti 5 vuorokautta, ja tämän vieroitusjakson aikana ACD-vasikat saivat maidonkorviketta 12 tuntia päivässä, kun taas RES-vasikoille tarjottiin vain yksi annos maidonkorviketta (3 l) päivässä. Vasikoita seurattiin päivittäin sairauden merkkien varalta. Ulosteen konsistenssipisteet määritettiin viikoittain syntymästä vieroitukseen asti. Osajoukko vasikoita valittiin järjestelmällisesti ulostenäytteitä varten kolmena ajankohtana 7-27 päivän iässä. Ulostenäytteistä analysoitiin enterotoksigeeninen Escherichia coli F5, Cryptosporidium parvum, rotavirus ja koronavirus. Lonkan leveys, lonkan korkeus, ruumiin pituus, sydämen ympärysmitta ja ruumiinpaino mitattiin syntymän ja vieroituksen yhteydessä. Vieroituksen jälkeiset ruumiinpainomittaukset kerättiin hiehoilta noin 8 kuukauden iässä. Vieroituksen jälkeiset ruumiinpaino- ja ruholuokitustiedot kerättiin vasikoilta teurastuksen yhteydessä, kun elopaino oli saavuttanut 300-350 kg. Niiden ACD-vasikoiden todennäköisyys, jotka joutuivat hoitoon vieroitusta edeltävän tautitapahtuman vuoksi, oli yleensä pienempi kuin RES-vasikoiden (1,2 % vs. 5,2 %). Vieroitusta edeltävä kuolleisuus, vieroituksen jälkeinen tautihoito ja vieroituksen jälkeinen kuolleisuus eivät eronneet ruokintakäsittelyjen välillä. ACD-ruokintakäsittely tuki suurempaa keskimääräistä päiväkasvua ennen vieroitusta (0,59 vs. 0,43 kg/d) ja rakenteellista kasvua kuin RES-ruokinta. Vieroituksen jälkeinen keskimääräinen päiväkasvu ja ruho-ominaisuudet olivat samanlaiset ACD- ja RES-vasikoilla. Nämä tulokset osoittavat, että vapaasti saatavilla oleva happamoitunut maidonkorvike ruokinta paransi terveyttä ja lisäsi painonnousua ja rakenteellista kasvua ennen vieroitusta; nämä vaikutukset eivät säilyneet vieroituksen jälkeisenä aikana. ACD-vasikoilla ennen vieroitusta havaittu kasvuetu hävisi todennäköisesti käytettyjen vieroitusmenetelmien vuoksi.

**Tulos**

Kliininen koe vapaasti saatavilla olevan hapatetun maidonkorvikkeen ruokintaohjelman vaikutuksista lypsävien korvikehiehojen ja vasikoiden terveyteen ja kasvuun.

**Esimerkki 1.274**

Eukaryootit ja bakteerit voivat saada tartunnan monenlaisista RNA-viruksista. Näillä patogeeneillä on keskimäärin vain vähän samankaltaisia sekvenssejä, ja ne käyttävät erilaisia replikaatio- ja transkriptiostrategioita. Lähes kaikkien RNA-virusperheiden jäsenet ovat kuitenkin riippuvaisia viruksen koodaaman RNA-riippuvaisen polymeraasin aktiivisuudesta nukleotiditrifosfaattien tiivistämisessä. Tässä katsauksessa luodaan yleiskatsaus nykyiseen käsitykseemme viruksen RNA-riippuvaisen polymeraasin rakenteesta sekä biokemiasta ja biofysiikasta, joka liittyy RNA-virusten geneettisen materiaalin replikointiin ja transkriptioon.

**Tulos**

Virusten RNA-riippuvaisten polymeraasien yhteiset ja ainutlaatuiset piirteet

**Esimerkki 1.275**

a b s t r a k t 2-Deoksi-a-D-riboosi-1-fosfaatti on erittäin kiinnostava, koska se osallistuu useiden biologisesti ja terapeuttisesti merkittävien nukleosidianalogien biosynteesiin ja/tai kataboliseen hajoamiseen. Koska sen 2-asemassa ei kuitenkaan ole stabiloivaa ryhmää, tästä yhdisteestä on vaikea syntetisoida vakaita aihiolääkkeitä. Tämän stabiilisuuden puutteen poistamiseksi suunniteltiin 2-deoksiriboosi-1-fosfaatin karbasukarianalogien synteesiä. Tässä raportoidaan 2-deoksiriboosi-1-fosfaatin kahden karbosyklisen analogin aihiolääkkeiden valmistuksesta fosforamidia ProTide-tekniikkaa käyttäen sekä niiden biologisesta arvioinnista HIV:n ja syöpäsolujen lisääntymistä vastaan.

**Tulos**

Kahden 2-deoksi-D-riboosi-1-fosfaatin analogin fosforamidiaattituotehoidon synteesi ja biologinen arviointi, jonka tarkoituksena on löytää kaksi karbasugaria uusina mahdollisina HIV:n vastaisina johtolankoina.

**Esimerkki 1.276**

YopH on bakteerien proteiinityrosiinifosfataasi, joka on välttämätön ruttoa aiheuttavien Yersinia sp. -bakteerien elinkelpoisuuden ja patogeenisen virulenssin kannalta. YopH:n toiminnan inaktivointi johtaisi bakteerien patogeenisuuden häviämiseen. Olemme tutkineet aurintrikarboksyylihapon (ATA) inhiboivia ominaisuuksia YopH-fosfataasia vastaan ja todenneet, että nanomolaarisissa pitoisuuksissa ATA vähentää palautuvasti YopH:n aktiivisuutta. Laskennalliset telakointitutkimukset osoittivat, että kaikissa sitoutumisasennoissa ATA sitoutuu YopH:n aktiiviseen kohtaan. Molekyylidynamiikkasimuloinnit osoittivat, että ennustetussa sitoutumisasennossa ATA sitoutuu aktiivisen alueen olennaisiin Cys403- ja Arg409-jäännöksiin, ja sillä on voimakkaampi sitoutumisaffiniteetti kuin luonnollisella substraatilla (pTyr). Syklisen voltammetriakokeet viittaavat siihen, että ATA reagoi huomattavan voimakkaasti molekulaarisen hapen kanssa. Lisäksi ATA:n sähkökemiallinen pelkistyminen negatiivisen potentiaalin ollessa läsnä -2,0-2,5 V:n välillä tuottaa virtasignaalin, joka havaitaan vetyperoksidille. Tässä osoitimme, että ATA osoittaa ainutlaatuisen mekanismin YopH:n inaktivaatiolle, joka johtuu redox-prosessista. Ehdotimme, että ATA:n voimakkaat inhibitoriset ominaisuudet johtuvat sen voimakkaasta sitoutumisesta YopH:n aktiiviseen kohtaan ja vetyperoksidin in situ-tuotannosta katalyyttisen kysteiinijäännöksen lähellä.

**Tulos**

Redox-prosessi on ratkaiseva tekijä aurintrikarboksyylihapon estäville ominaisuuksille YopH:n (Yersinia pestis -bakteerin virulenssitekijä) toimintaa vastaan.

**Esimerkki 1.277**

Rutto on bakteerien aiheuttama tartuntatauti, johon kuolee paljon ihmisiä ilman hoitoa. Sitä on esiintynyt 6. vuosisadan jälkeen kolmessa valtavassa pandemiassa, joissa on kuollut miljoonia ihmisiä, sekä lukuisissa pienemmissä epidemioissa ja satunnaisissa tapauksissa. Keuhkoruton erityisiin kliinisiin oireisiin viitaten tauti tunnettiin nimellä musta surma. Tämä pandemia sai todennäköisesti alkunsa Keski-Aasiasta ja alkoi levitä länteen pitkin suuria kauppareittejä. Saavuttuaan itäiselle Välimerelle tauti levisi nopeasti erityisesti meriteitse Italiaan, Kreikkaan ja Ranskaan ja myöhemmin maitse koko Eurooppaan. Monet Euroopan kaupungit kärsivät usein muista suurista ruttoepidemioista aina 18. vuosisadalle saakka. Kolmannen pandemian maailmanlaajuinen leviäminen alkoi, kun rutto saavutti Hongkongin ja Kantonin vuonna 1894. Gramnegatiivinen kokkobakteeri, jota nykyisin kutsutaan nimellä Yersinia pestis, löydettiin ruttoa aiheuttavaksi tekijäksi tässä Hongkongin taudinpurkauksessa. Seuraavina vuosina rottien ja kirppujen rooli ja niiden yksityiskohtainen rooli ruttotaudin leviämisessä on löydetty ja kokeellisesti todennettu. Nykyään rutto on edelleen endeeminen monissa maailman maissa.

**Tulos**

Ruton historia ja sen aiheuttajan Yersinia pestis -bakteerin tutkiminen.

**Esimerkki 1.278**

Positiivisjuosteiset virukset syntetisoivat RNA:nsa kalvosidonnaisissa organelleissa, mutta ei ole selvää, miten tämä hyödyttää virusta tai isäntää. Koronavirusten osalta nämä organellit ovat kaksoiskalvovesikkeleitä (DMV), jotka on yhdistetty toisiinsa kierteisellä kalvoverkostolla. Elektronimikroskopian avulla tunnistimme hiirten koronaviruksia, joilla oli mutaatioita nsp3:ssa ja nsp14:ssä ja jotka lisääntyivät normaalisti mutta tuottivat vain puolet normaalista määrästä DMV:tä matalan lämpötilan kasvuolosuhteissa. Virukset, joilla oli mutaatioita nsp5:ssä ja nsp16:ssa, tuottivat pieniä DMV:itä, mutta myös ne replikoituivat normaalisti. Kvantitatiivinen käänteistranskriptaasi-PCR (RT-PCR) vahvisti, että näistä voimakkaimmin vaurioitunut nsp3-mutaatio tuotti enemmän viruksen RNA:ta kuin villityypin virus. Kilpailukykyisiä kasvumäärityksiä tehtiin sekä jatkuvissa että primaarisoluissa, jotta ymmärrettäisiin paremmin DMV:iden vaikutus viruksen kuntoon. Yllättäen useat virukset, jotka tuottivat vähemmän tai pienempiä DMV:itä, osoittivat alhaisemmassa lämpötilassa korkeampaa kuntoa kuin villityyppivirukset, mikä viittaa siihen, että suuremmat ja lukuisammat DMV:t eivät välttämättä anna kilpailuetua primaarisessa tai jatkuvassa soluviljelyssä. Tämä osoittaa ensimmäistä kertaa suoraan, että replikaatiota ja organellien muodostumista voidaan ainakin osittain tutkia erikseen positiivisjuosteisen RNA-viruksen infektion aikana. DMV:t on se, miksi ne ylipäätään ovat olemassa. Tässä tutkimuksessa tarkastelimme tuhansia infektoituneita soluja ja tunnistimme kaksi koronavirusmutanttia, jotka muodostivat puolet vähemmän organelleja kuin normaalisti, ja kaksi muuta, jotka muodostivat tyypillisiä määriä mutta pienempiä organelleja. Huolimatta eroista DMV:n koossa ja määrässä kaikki neljä mutanttia replikoituivat yhtä tehokkaasti kuin villityypin virus. Ymmärtääksemme paremmin replikatiivisten organellien suhteellista merkitystä teimme kilpailevia fitness-kokeita. Yhdenkään viruksen ei havaittu olevan merkittävästi huonommassa kunnossa kuin villityypin virukset, ja kaksi virusta oli itse asiassa parempia kahdella solutyypillä tehdyissä testeissä. Tämä viittaa siihen, että virukset ovat kehittyneet niin, että niillä on valtava plastisuus kyvyssä muodostaa kalvoihin liittyviä replikaatiokomplekseja, ja että suuret ja lukuisat DMV:t eivät liity yksinomaan tehokkaaseen koronavirusten replikaatioon. Citation Al-Mulla HMN, Turrell L, Smith NM, Payne L, Baliji S, Züst R, Thiel V, Baker SC, Siddell SG, Neuman BW. 2014. Koronavirusten kilpailukyky ei korreloi kaksoiskalvovesikkelien koon tai määrän kanssa alennetussa lämpötilassa vallitsevissa kasvuolosuhteissa. mBio 5(2):e01107-13.

**Tulos**

Coronavirusten kilpailukyky ei korreloi kaksoiskalvopesikkelien koon tai määrän kanssa alennetun lämpötilan kasvuolosuhteissa.

**Esimerkki 1.279**

26-vuotias mies, jolla oli aiemmin ollut Crohnin tauti ja joka oli ollut remissiossa yli 10 vuotta, saapui lääketieteelliseen tehohoitoyksikköön (MICU) ripulin, hematurian, vasemmanpuoleisten keuhkoinfiltraattien, transaminiitin ja nopeasti alkaneen hengitysvajauksen ja akuutin munuaisvaurion (AKI) vuoksi. Potilas voi hyvin, kunnes 7 päivää ennen teho-osastolle tuloa hänelle kehittyi vakava ei-verinen ripuli noin 20 kertaa päivässä. Kolme päivää aiemmin hän oli tullut päivystyspoliklinikalle, ja hänet lähetettiin kotiin normaalilla suolaliuoksella annostellun nesteytyksen jälkeen, ja hänen rintakehänsä röntgenkuvaus oli tiettävästi normaali. Kaksi päivää aiemmin hän oli käynyt perusterveydenhuollossaan jatkuvan ripulin ja 39,4 °C:n kuumeen vuoksi, ja hänet lähetettiin kotiin ripulilääkkeillä. Päivää aiemmin hän palasi päivystykseen rintakehän ahtauden, hengenahdistuksen ja tummaa ysköstä tuottavan yskän vuoksi, ja hänellä todettiin uusi vasemmanpuoleinen infiltraatti keuhkokuvassa, joka sopi keuhkokuumeeseen. Hän ilmoitti myös tummasta virtsasta ja anoreksiasta. Hän kiisti pahoinvoinnin, oksentelun, vatsakivun, ihottuman tai dysurian. Päivystyspoliklinikalla hänen todettiin olevan kuumeinen (lämpötila 40,6 °C), takykardinen (syke 140 lyöntiä minuutissa), takypneettinen (hengitystaajuus 29 hengitystä minuutissa, verenpaine 115/65 mmHg) ja hypoksinen (happisaturaatio 93 %, kun hänelle annettiin 4 litraa happea minuutissa). Hänet siirrettiin kaksitasoiseen positiiviseen hengitystiepaineeseen (BIPAP) lisääntyneen hengitystyön ja hypoksian vuoksi, ja hän sai empiiristä antibioottihoitoa ja steroideja, mukaan lukien laskimonsisäistä keftriaksonia, atsitromysiiniä ja linetsolidia. Sen jälkeen hänet siirrettiin Chicagon yliopiston lääketieteen MICU:lle. Hänen hengitystilansa heikkeni, ja noin 5 tunnin kuluttua hänet intuboitiin. Potilas ei ollut syönyt äskettäin ravintolaruokia eikä hänellä ollut tiedossa olevia sairaita kontakteja. Hän työskenteli putkiasentajana. Hän kiisti lemmikkieläimet, epätavalliset harrastukset tai matkustamisen edellisen 6 kuukauden aikana. Fyysisessä tutkimuksessa hänen sykkeensä oli 150 lyöntiä minuutissa, verenpaineensa 100/50 mmHg, lämpötilansa 39,1 °C ja hengitystaajuutensa 28 henkeä minuutissa. Hänet intuboitiin ja rauhoitettiin. Hänellä ei ollut kohdunkaulan adenopatiaa, ja hänen sidekalvonsa oli pistetty. Keuhkotutkimuksessa todettiin halkeilua molemmin puolin, ja sydän- ja verisuonitutkimuksessa havaittiin normaalit S1 ja S2 ilman sivuääniä. Pulssit olivat tasaiset, mutta kapillaarien täyttyminen oli hidasta, noin 3 s. Vatsan tutkimuksessa maksa ja perna olivat palpoitavissa normaalisti, eivätkä ne olleet hellävaraisia. Hänellä ei ollut ihottumaa. Seerumin laboratoriotulokset MICU:lle siirron yhteydessä olivat seuraavat: valkosolujen määrä 11 900/μl (92 % neutrofiilejä, 3 % lymfosyyttejä), hemoglobiini 14,1 g/dl ja verihiutaleiden määrä 195 000/μl. Metaboliset perusarvot olivat

**Tulos**

Ripuli johtaa keuhkokuumeeseen ja hematuriaan teho-osastolla

**Esimerkki 1.280**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää, vaikuttaisiko pesämateriaalin tai polykarbonaattisuojien käyttö rikastamisvälineinä päätepisteisiin, joita yleisesti mitataan kansallisen toksikologisen ohjelman (NTP) 13 viikon tutkimusten aikana. Tutkimusasetelma oli yhdenmukainen NTP:n 13 viikon toksisuustutkimusten kanssa. Harlan Sprague Dawley (HSD) -rotat ja niiden jälkeläiset sekä B6C3F1/N-hiiret jaettiin kontrolliryhmiin (ilman varusteita) ja varustettuja koeryhmiin. Arvioitiin ruumiinpainoa, ruoan ja veden kulutusta, käyttäytymishavaintoja, ulosteen sisältöä, kliinistä patologiaa, karkeapatologiaa, elinten painoa ja histopatologiaa. Rikastetuilla uroshiirillä sekä uros- ja naarasrotilla rehun syönti väheni ilman, että ruumiinpaino laski; tämä saattoi johtua siitä, että pesämateriaali vähensi kylmäkuormituksen vaikutusta ja mahdollisti siten rehun tehokkaamman käytön. Joissakin hematologisissa parametreissa oli tilastollisia eroja, mutta niitä ei pidetty fysiologisesti merkityksellisinä, koska kaikki arvot olivat normaalialueella. Karkeapatologiset ja histopatologiset löydökset olivat taustamuutoksia, eikä niiden katsottu liittyvän rikastamiseen. Pesämateriaalia ja suojia käytettiin usein ja johdonmukaisesti, ja ne antoivat eläimille mahdollisuuden osoittaa lajille tyypillistä käyttäytymistä. HSD-rotilla ja B6C3F1/N-hiirillä, joille annettiin rikkauslaitteita, ei ollut merkittävää vaikutusta yleisesti mitattuihin päätepisteisiin.

**Tulos**

Ympäristön rikastuslaitteiden vaikutus NTP:n in vivo -tutkimuksiin.

**Esimerkki 1.281**

Vaikka vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän aiheuttavan tappavan koronaviruksen (SARS-CoV) ensimmäiset taudinpurkaukset saatiin hallintaan kansanterveydellisillä toimenpiteillä, rokotteiden ja viruslääkkeiden kehittäminen SARS-CoV:tä vastaan on välttämätöntä tulevien taudinpurkausten hallinnan ja hoidon parantamiseksi. Yksi mahdollinen kohde SARS-CoV:n viruslääkkeiden kehittämiselle on 3C:n kaltainen proteaasi (3CLpro). Tämä entsyymi on houkutteleva kohde, koska se on välttämätön viruksen replikaatiolle ja koska SARS-CoV:n 3CLpro:sta on nyt saatavilla useita korkean resoluution röntgenrakenteita, jotka mahdollistavat rakenteeseen perustuvan lääkesuunnittelun. Tämän seurauksena SARS-CoV 3CLpro:sta on tullut maailmanlaajuisesti lukuisten lääkekehitystoimien kohteena, mutta tämän seurauksena on kehitetty itsenäisesti useita erilaisia 3CLpro:n ekspressiokonstruktioita ja kineettisiä testejä, mikä tekee mahdollisten inhibiittorien arvioinnin ja vertailun ongelmalliseksi. Tässä tarkastelemme kirjallisuutta, jossa keskitytään erilaisiin SARS-CoV:n 3CLpro-ekspressiokonstruktioihin ja entsyymiaktiivisuuden mittaamiseen käytettyihin määrityksiin. Lisäksi esitämme kokeellista näyttöä siitä, että 3CLpro-entsyymin aktiivisuus vähenee merkittävästi, kun entsyymin N- tai C-terminaaleihin lisätään muita kuin natiivisekvenssejä tai affiniteettitageja tai kun määrityksissä käytetty entsyymi on konsentraatioissa, jotka ovat alle 3CLpro-dimeerin tasapainodissosiaatiovakion. Osoitamme ensimmäistä kertaa erittäin herkän ja uudenlaisen Alexa488-QSY7 FRET-pohjaisen peptidisubstraatin käyttökelpoisuuden, joka on suunniteltu rutiinianalyyseihin ja korkean läpimenon seulontaan, ja osoitamme, että FRET-pohjaisista määrityksistä määritetyt kineettiset vakiot, joita ei ole korjattu sisäisen suodattimen vaikutuksilta, voivat johtaa artefakteihin. Lopuksi arvioimme yleisten määrityskomponenttien, kuten DTT:n, NaCl:n, EDTA:n ja DMSO:n, vaikutuksia entsyymiaktiivisuuteen ja suosittelemme standardoituja määritysolosuhteita ja -rakenteita rutiinimaisiin SARS-CoV 3CLpro -määrityksiin, jotta helpotetaan maailmanlaajuisesti kehitteillä olevien SARS-CoV 3CLpro -inhibiittoreiden suoria vertailuja.

**Tulos**

SARS-koronaviruksen 3C:n kaltaisen proteaasiaktiivisuuden arviointi: NIH Public Access: suositukset standardoiduista määrityksistä lääkkeiden löytämiseksi NIH Public Access

**Esimerkki 1.282**

Koska lintujen tarttuvan keuhkoputkentulehduksen virusten (IBV) eri kantojen serotyypit vaihtelevat, poikasten rokottaminen maahantuoduilla rokotteilla ei suojaa niitä IBV-tartunnoilta Taiwanissa. Siksi kehitämme heikennettyjä rokotteita Taiwanin paikallisista kannoista. Taiwanin ryhmän I (TW I) kanta passagoitiin 74 kertaa spesifisistä patogeeneistä vapaiden (SPF) kanojen alkiomunien läpi ja testattiin sitten SPF-kanoilla. Heikennetty rokote ei ollut patogeeninen yhden viikon ikäisissä poikasissa, sen neutralointi-indeksi (NI) oli yli 4,4 ja teho 90 prosenttia, kun rokotetut linnut altistettiin kentällä esiintyvälle IBV-kannalle. Samanlaisia tuloksia saatiin myös Taiwanin ryhmän II IBV-kannasta valmistetusta rokotteesta. Lisäksi TW I:n heikennetyn rokotekannan virulenssi ei palautunut viiden takaisinvirulenssin jälkeen poikasissa. Johtopäätöksenä voidaan todeta, että näillä heikennetyillä rokotteilla on potentiaalia paikallisten taiwanilaisten IBV-infektioiden hallintaan kanojen keskuudessa.

**Tulos**

Heikennettyjen rokotteiden kehittäminen taiwanilaisista tarttuvan keuhkoputkentulehduksen viruskannoista.

**Esimerkki 1.283**

Multippeliskleroosi (MS-tauti) on keskushermoston (CNS) invalidisoiva sairaus, jota on tutkittu laajalti kokeellisen autoimmuunisen enkefalomyeliitin (EAE) eläinmallilla. CD4+ T-lymfosyyttien uskotaan olevan tärkeässä roolissa tämän taudin patogeneesissä, sillä ne välittävät neuronien aksonien demyelinaatiota proinflammatoristen sytokiinien erittymisen kautta, mikä johtaa kliinisiin oireisiin. Vaikka viime vuosikymmeninä on saatu paljon tietoa tulehdukseen ja taudin välittämiseen osallistuvista soluista, tärkeät kysymykset ovat jääneet vaille vastausta. Pitkään on katsottu, että neuroantigeenin esittely ja T-solujen aktivoituminen tapahtuvat aluksi immuunijärjestelmän periferiassa ja siirtyvät sitten keskushermostoon. Yhä useammat todisteet viittaavat kuitenkin siihen, että antigeenin (Ag) esittely saattaa alkaa itse keskushermostossa. Tärkeää on, että on jäänyt ratkaisematta, mitkä antigeenin esittelevät solut (APC) keskushermostossa hankkivat ensimmäisenä neuroantigeenit ja esittelevät ne T-soluille EAE:n/MS:n aikana ja millaisissa olosuhteissa tämä tapahtuu, eli tapahtuuko tämä terveessä keskushermostossa vai vain tulehdusolosuhteissa ja mistä siihen liittyvä sytokiinimikroympäristö muodostuu. Erityisesti interferoni-g:n keskeinen rooli keskushermoston patologian ensisijaisena välittäjänä EAE:n aikana on kyseenalaistettu interleukiini-17:ää tuottavien Th17-solujen ilmaantumisen myötä. Tässä katsauksessa kuvataan tämänhetkistä käsitystämme keskushermoston mahdollisista APC-soluista sekä näiden ja muiden keskushermoston solujen osuudesta tautipatologiaan. Lisäksi käsitellään kysymystä siitä, missä Ag:n esittely käynnistyy ja missä olosuhteissa neuroantigeenit tulevat APC:iden saataville, painottaen erityisesti sitä, mitkä sytokiinit voivat olla tärkeitä tässä prosessissa.

**Tulos**

Antigeenin ja esittelyn aiheuttaman sytokiinien ristikkäisvaikutuksen kriittinen rooli keskushermostossa multippeliskleroosissa ja kokeellisessa autoimmuunisessa enkefalomyeliitissä.

**Esimerkki 1.284**

Nopeat simulointityökalut hiukkasten ohimenevän kulkeutumisen ennustamiseksi ovat ratkaisevan tärkeitä suunniteltaessa ilmanjakoa sisätiloissa, jotta voidaan vähentää altistumista sisäilman hiukkasille ja niihin liittyviä terveysriskejä. Tässä tutkimuksessa ehdotettiin yhdistettyä nopean nestedynamiikan (FFD) ja Markovin ketjumallin yhdistelmää hiukkasten ohimenevän kulkeutumisen nopeaa ennustamista varten sisätiloissa. FFD-Markov-ketjumallin ratkaisija ohjelmoitiin OpenFOAMiin, joka on avoimen lähdekoodin CFD-työkalupakki. Tässä tutkimuksessa käytettiin kahta kirjallisuudesta löytyvää tapausta kehitetyn mallin validoimiseksi, ja havaittiin, että FFD-Markov-ketjumallin ennustamat hiukkaspitoisuudet ja kokeelliset tiedot vastaavat hyvin toisiaan. Lisäksi tässä tutkimuksessa verrattiin FFD-Markov-ketjumallia CFD-Euler-malliin ja CFD-Lagrangian-malliin tarkkuuden ja tehokkuuden osalta. FFD-Markov-ketjumallin tarkkuus oli samanlainen kuin kahden muun mallin. Kahdessa tutkitussa tapauksessa FFD-Markov-ketjumalli oli 4,7 ja 6,8 kertaa nopeampi kuin CFD-Eulerian malli ja 137,4 ja 53,3 kertaa nopeampi kuin CFD-Lagrangen malli ennustettaessa tasaista ilmavirtaa ja hiukkasten siirtymäkauden kulkeutumista. Näin ollen FFD-Markov-ketjumalli pystyy vähentämään huomattavasti laskentakustannuksia hiukkasten siirtymäkuljetuksen ennustamisessa sisäympäristöissä. computational fluid dynamics, indoor environment, Eulerian model, Lagrangian model, particle dispersion, aerosol dynamics Article History

**Tulos**

Hiukkasten kulkeutumisen mallintaminen nopealla nestedynamiikalla Markovin ketjumenetelmällä

**Esimerkki 1.285**

SARS 3C:n kaltainen proteinaasi (SARS-3CLpro), joka on SARS-koronaviruksen pääproteinaasi, on välttämätön viruksen elinkaaren kannalta. Tämän entsyymin on osoitettu olevan aktiivinen dimeerinä, jossa vain yksi protomeeri on aktiivinen. Ei kuitenkaan tiedetä, miten dimeerirakenne säilyttää aktiivisen monomeerikonformaation. On havaittu, että Ser139-Leu141-silmukka muodostaa lyhyen 3 10 -helixin, joka häiritsee katalyyttistä koneistoa inaktiivisessa monomeerirakenteessa. Olemme yrittäneet häiritä tätä kierteistä konformaatiota muuntamalla L141:n T:ksi vakaassa inaktiivisessa monomeerissä G11A/R298A/Q299A. Tuloksena syntynyt tetramutantti G11A/L141T/R298A/Q299A on todellakin entsymaattisesti aktiivinen monomeerinä. Molekyylidynamiikkasimuloinnit osoittivat, että L141T-mutaatio rikkoo 3 10 -helixin ja auttaa vakauttamaan aktiivisen konformaation. Ser139-Leu141-silmukan kela-3 10 -helix-konformaatiomuutos toimii entsyymin aktiivisuuskytkimenä. Tutkimuksemme osoittaa siis, että dimeerirakenne voi vakauttaa aktiivisen konformaation, mutta se ei ole välttämätön rakenne aktiivisen entsyymin evoluutiossa, joka voi syntyä myös yksinkertaisten mutaatioiden kautta.

**Tulos**

SARS-3CLpro:n aktiivisen kohdan lähellä olevan lyhyen silmukan konformaatiojoustavuus on välttämätöntä katalyyttisen aktiivisuuden ylläpitämiseksi. OPEN

**Esimerkki 1.286**

Codon usage bias (CUB) on tärkeä genomin evolutiivinen piirre, joka tarjoaa tärkeää tietoa organismien evoluution, geenien toiminnan ja eksogeenisen geeniekspression tutkimiseksi. Tässä tutkimuksessa analysoitiin neljän sekvensoidun puuvillalajin, G. arboreum (A 2 ), G. raimondii (D 5 ), G. hirsutum (AD 1 ) ja G. barbadense (AD 2 ), ydingenomissa esiintyvää CUB:ia ja sitä muokkaavia tekijöitä. Efektiivinen koodonien määrä (ENC) -analyysi osoitti, että CUB oli heikko näissä neljässä lajissa ja kahden tetraploidin neljässä alatyypissä. Koodonikoostumusanalyysi osoitti, että nämä neljä lajia käyttivät mieluummin pyrimidiinirikkaita koodoneja kuin puriinirikkaita koodoneja. Korrelaatioanalyysi osoitti, että koodonien kolmannen aseman emäspitoisuus vaikuttaa koodonien suosimisen asteeseen. PR2-bias plot- ja ENC-plot-analyysit osoittivat, että translaatiovalinnan, suunnatun mutaation ja muiden tekijöiden yhteisvaikutukset vaikuttivat näiden genomien ja alasukujen CUB-malleihin. Translaatiovalikoiman (P2) analyysin tulokset yhdessä GC12:n ja GC3:n välisen merkityksetön korrelaation kanssa osoittivat lisäksi, että translaatiovalikoimalla oli mutaatiopaineeseen nähden hallitseva rooli koodinkäytön vääristymässä. Suhteellisen synonyymisen koodinkäytön (RSCU) analyysin avulla havaitsimme näissä neljässä lajissa ja neljässä alatyypissä 25 korkean frekvenssin koodonia, jotka päätyvät mieluummin T:hen tai A:han, ja 31 matalan frekvenssin koodonia, jotka päätyvät mieluummin C:hen tai G:hen. Lopuksi määritettiin 19-26 optimaalista koodonia, joista 19 oli yleisiä ja jotka päätyivät mieluummin A:han tai T:hen. Johtopäätöksenä oli, että koodinkäytön vääristymät olivat heikkoja ja translaatiovalinta oli pääasiallinen muokkaava tekijä näiden neljän puuvillagenomin ja neljän alasuvun ydingeeneissä. OPEN ACCESS Citation: Wang L, Xing H, Yuan Y, Wang X, Saeed M, Tao J, et al. (2018) Genome-wide analysis of codon usage bias in four sequenced cotton species. PLoS ONE 13(3): e0194372. https://doi. synonyymisiksi koodoneiksi kutsuttuja koodoneja. Synonyymisiä koodoneja ei käytetä yhtä usein koodaavissa sekvensseissä monissa organismeissa [1]. Tämä ilmiö, jota kutsutaan nimellä "synonyymisten koodonien käytön harha (SCUB)", kuvastaa samaa aminohappoa koodaavien synonyymisten koodonien epätasaista käyttöä geenien kääntämisen aikana proteiineiksi [2,3]. SCUB-eron aste vaihtelee suuresti eri lajien ja geenien välillä [4-7]. SCUB:iin vaikuttavat monet tekijät, kuten suunnattu mutaatio, neutraali valinta [8], GC-pitoisuus, synonyymisten substituutioiden määrä [9], tRNA:n runsaus [10], tehokkaan translaation aloituksen valinta [11], kodonihydropatia ja DNA:n replikaation aloituskohta [12], geenin pituus [13] ja ekspressiotaso [14] jne. Näistä tekijöistä suunnattu mutaatio ja neutraali valinta ovat kaksi tärkeintä, joiden suhteellinen merkitys vaihtelee eri lajeissa [15] [16] [17]. Kodonien käyttömallit edustavat aina tasapainoa suunnatun mutaation ja neutraalin valinnan välillä, mikä johtaa geenien translaatiotehokkuuteen [8] [9] [10] [11] . SCUB-koodausmallit liittyivät myös tiettyjen lajien välisiin fylogeneettisiin suhteisiin. Kaukana toisistaan olevilla fylogeneettisillä lajeilla on yleensä suurempia vaihteluita koodinkäytön poikkeavuudessa [18,19]. SCUB-malleja koskevat tiedot voivat antaa merkittäviä tietoja geenien ennustamisesta, luokittelusta ja molekyylievoluutiosta, vahvasti ekspressoituvien geenien ja kloonausvektoreiden suunnittelusta sekä paljastaa isännän ja patogeenin yhteisevoluutiosta ja patogeenien sopeutumisesta tiettyihin isäntiin [20,21]. RSCU-arvoihin (relative synonymous codon usage) perustuvat klusterointitulokset voivat olla hyödyllisiä viitteitä fylogeneettisten suhteiden analysoinnissa [18,19,22]. Puuvilla (Gossypium spp.) on tärkein uusiutuvien tekstiilikuitujen lähde, ja sitä viljellään myös kasviöljyn ja proteiinipitoisten aterioiden tuottamiseksi ihmisille ja karjalle [23]. Gossypium-sukuun kuuluu noin 46 diploidia (2n = 2x = 26) ja 6 tetraploidia (2n = 4x = 52) ja 1 väitettyä lajia [24][25][26], joista neljä kaupallista lajia, G. arboreum (A 2 ), G. herbaceum (A 1 ), G. hirsutum (AD 1 ) ja G. barbadense (AD 2 ). On ehdotettu, että kaikki diploidiset puuvillalajit ovat saattaneet kehittyä yhteisestä esi-isästä, ja allopolyploidinen puuvilla on saattanut syntyä A- ja D-subgenomien esi-isien välisen hybridisaation ja sitä seuranneiden polyploidisaatiotapahtumien kautta. D-sukupolven laji G. raimondii (D 5 ) ja nykyistä G. arboreumia (A 2 ) ja G. herbaceumia (A 2 ) muistuttavat A-sukupolven lajit ovat tetraploidien puuvillalajien D- ja A-kromosomiryhmien luovuttajalajeja [27][28]. Viime aikoina on julkaistu peräkkäin G. arboreum-, G. raimondii-, G. hirsutum- ja G. barbadense -lajien ydingenomin sekvenssit sekä G. hirsutum -lajien kloroplastin ja mitokondrioiden genomin sekvenssit [29][30][31][32][33][34][35][36][37][38], mikä on edistänyt puuvillan genomiikan ja genetiikan tuntemusta ja mahdollistanut puuvillan ydin- ja organelligenomien SCUB-mallien tutkimisen. Tähän mennessä SCUB-analyysi on kuitenkin tehty vain G. hirsutum -lajin kloroplastigenomista [36]. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli analysoida neljän sekvensoidun puuvillalajin SCUB-kuvioita ja tutkia keskeisiä kodonivalintaan vaikuttavia tekijöitä.

**Tulos**

Genomin laajuinen analyysi koodonien käytön vääristymistä neljässä sekvensoidussa puuvillalajissa.

**Esimerkki 1.287**

Tuntemattoman ikäinen kulkukissa, jolla oli kirkkaanpunainen vetinen ripuli, toimitettiin eläin- ja kasvikaranteenivirastoon diagnoosia varten. Nekropsiassa kuolleesta kissasta otetuissa ohutsuolissa oli lukuisia valkoisia soikeanmuotoisia organismeja, jotka olivat tiukasti kiinni limakalvoissa, ja suolen seinämä oli paksuuntunut. Histopatologinen analyysi paljasti vakavan nekrotisoivan suolitulehduksen, surkastuneita suolen suonikalvoja, kuoriutuneita suolistosoluja ja loismatoja. Morfologisen havainnoinnin ja geneettisen analyysin perusteella löydetyt madot tunnistettiin Pharyngostomum cordatumiksi. Vaikka P. cordatumin tiedetään esiintyvän laajalti Koreassa, tämä on ensimmäinen kliininen kuvaus P. cordatumin aiheuttamasta vakavasta kissan suolitulehduksesta.

**Tulos**

Pharyngostomum cordatum -infektion aiheuttama nekrotisoiva suolistotulehdus kulkukissalla.

**Esimerkki 1.288**

Virustautien suuren levinneisyyden vuoksi taistelu viruksia vastaan ei ole koskaan loppunut. Tässä käsitellään viittä soluprosessia, nimittäin "autofagiaa", "ohjelmoitua solukuolemaa", "immuunivastetta", "solusyklin muutosta" ja "rasva-aineenvaihdunnan uudelleenohjelmointia", jotka ohjaavat merkittävästi virusten replikaatiota isäntäinfektion jälkeen orkestroidulla tavalla. Virusinfektiossa "autofagia" ja "ohjelmoitu solukuolema" ovat kaksi dynaamisesti synkronoitua solun selviytymisohjelmaa; "immuunivaste" on solun puolustusohjelma, jonka virukset tyypillisesti tukahduttavat; "solusyklin muutos" ja "lipidimetabolian uudelleenohjelmointi" ovat kaksi muutettua solun taloudenpito-ohjelmaa, jotka ovat viritettävissä molempiin suuntiin. Painotamme niiden toiminnallisuutta virusten replikaation moduloinnissa, strategioita, joita virukset ovat kehittäneet virittämään näitä prosesseja omaksi hyödykseen, ja sitä, miten nämä prosessit organisoivat ja säätelevät solujen kohtaloa virusinfektion yhteydessä. Ymmärrys siitä, miten virukset kaappaavat isäntäverkkoja, on sekä akateemista että teollista arvoa, sillä se tarjoaa tietoa terapeuttisten strategioiden suunnittelusta virustautien torjumiseksi, tarjoaa hyödyllistä tietoa sovelluksissa, joissa pyritään käyttämään virusvektoreita ihmisten terveyden parantamiseen, kuten geeniterapiassa, ja tarjoaa suuntaviivoja virushiukkasten tuoton maksimoimiseksi, jotta rokotteiden tuotantoa voidaan parantaa alhaisemmilla kustannuksilla. ARTIKKELIN HISTORIA

**Tulos**

Järjestäytyneet toimet isäntäverkon kaappaamiseksi: Virusten replikaatiota ohjaavat prosessit

**Esimerkki 1.289**

Tässä kaksiosaisessa katsaussarjassa olemme kutsuneet alansa asiantuntijoita kirjoittamaan artikkeleita uusien taudinaiheuttajien rokotetutkimuksen ja -kehityksen tilanteesta. Aihe on viime vuosina noussut voimakkaasti esiin, kun on puhjennut merkittäviä virustauteja, kuten vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän ja Lähi-idän hengitystieoireyhtymän aiheuttavia tauteja, ja kun on puhjennut tuhoisia tautiepidemioita, joita aiheuttavat muun muassa Ebola-, Marburg-, Zika- ja Lassa-kuume-virukset. Lisäksi bakteeri-infektiot, jotka johtavat paiseruttoon ja keuhkoruttoon, erityisesti Madagaskarissa vuonna 2018, sekä malaria monissa trooppisissa maissa, melioidoosi Kaakkois-Aasiassa ja tularemia Pohjois-Euroopassa ja Pohjois-Amerikassa ovat aiheuttaneet merkittävää sairastuvuutta ja kuolleisuutta. Tässä katsaussarjassa on tarkasteltu näiden taudinaiheuttajien elinkaarta ja tautien epidemiologiaa sekä mahdollisia toimintakohteita ihmisten tartuntojen ehkäisemiseksi. Monet uusista taudinaiheuttajista ovat zoonooseja, ja näin ollen on mahdollista puuttua eläimiin/hyönteisiin/ympäristöön. Muita tässä katsaussarjassa käsiteltyjä taudinaiheuttajia, kuten monilääkeresistenttiä tuberkuloosia, pidetään uusina taudinaiheuttajina.

**Tulos**

Rokotteet uusia taudinaiheuttajia vastaan: tutkimuksesta kliiniseen käyttöön.

**Esimerkki 1.290**

Koska koronavirus (COVID-19) leviää Kiinasta ja laajenee ympäröiville alueille ja muihin maihin, kansallisia ja kansainvälisiä toimenpiteitä taudinpurkauksen hillitsemiseksi on lisätty. Kokonaisten kaupunkien sulkeminen vaikuttaa suoraan kaupunkien talouteen monenvälisellä tasolla, myös sosiaaliselta ja taloudelliselta kannalta. Tämä korostuu, kun epidemia leviää muihin maihin ja johtaa maailmanlaajuiseen terveyshätätilanteeseen ja kun maailmanlaajuista yhteistyötä haetaan useilta tahoilta. Vaikka terveystietojen jakamista koskevia tehokkaita pöytäkirjoja korostetaan, kaupunkitietoja, erityisesti kaupunkien terveyteen ja turvallisen kaupungin käsitteisiin liittyviä tietoja, tarkastellaan kuitenkin edelleen nationalistisesta näkökulmasta siten, että ne hyödyttävät ainoastaan kansakunnan taloutta ja sen taloudellista ja poliittista vaikutusvaltaa. Tässä näkökulma-asiakirjassa, joka on kirjoitettu kuukausi taudin havaitsemisen jälkeen ja taudinpurkauksen aikana, kartoitetaan viruksen puhkeamista kaupunkien näkökulmasta ja edistetään sitä, miten älykkäiden kaupunkiverkkojen olisi pyrittävä parantamaan standardointiprotokollia, jotta taudinpurkausten tai katastrofien yhteydessä voitaisiin lisätä tietojen jakamista, mikä johtaisi parempaan globaaliin ymmärrykseen ja hallintaan. Healthcare 2020, 8, 46 7 of 9 Kun älykkään kaupungin käsite ja siihen liittyvät teknologiset välineet otetaan yhä useammin käyttöön maailmassa, nämä välineet on räätälöitävä siten, että varmistetaan, että elinkelpoisuusnäkökohdat otetaan asianmukaisesti huomioon, mukaan lukien kaupunkien terveyteen liittyvät teemat. Tässä yhteydessä väitetään, että älykkään kaupunkiteknologian toimittajien välisen standardoinnin puute voi johtaa ja johtaa parhaillaan siihen, että kaupunkien ja tietoalustojen välillä ei ole viestintää. Tämä voi johtaa, ja johtaa, tuottamattomaan järjestelmään virusten puhkeamisen yhteydessä, koska niiden varhainen havaitseminen ja hallinta voi olla yhä riippuvaisempi älykkäiden kaupunkien teknologisesta selkärangasta. Tässä asiakirjassa korostetaankin, että on kiireellisesti pyrittävä standardoimaan protokollia älykkäiden kaupunkien tehostettua viestintää varten ja että älykkäiden kaupunkien teknologia-alaa on demokratisoitava, jotta sidosryhmien tasapuolisuutta ja avoimuutta voidaan edistää ja siten lisätä yhteistyömahdollisuuksia katastrofien sattuessa.

**Tulos**

Coronavirus (COVID-19) -epidemiasta ja älykkään kaupungin verkosta: Yleiset tiedonjakostandardit yhdistettynä tekoälyyn (AI) kaupunkien terveysseurannan ja -hallinnan hyödyksi.

**Esimerkki 1.291**

Ihmispopulaatioissa ilmaantuu jatkuvasti uusia tartuntatauteja. Ennustavat tutkimukset ovat alkaneet tunnistaa taudinaiheuttajien ominaisuuksia, jotka liittyvät tautien ilmaantumiseen. Uusien taudinaiheuttajien virulenssi vaihtelee kuitenkin suuresti, mikä on keskeinen tekijä niiden lopullisen kansanterveydellisen riskin kannalta. Seuraavassa tarkastelemme jäsennellyn kirjallisuushaun avulla kunkin 214 tunnetun ihmistä infektoivan RNA-viruslajin virulenssia. Sen jälkeen käytämme koneoppimismenetelmää määrittääksemme, voidaanko viruksen virulenssia ennustaa ekologisten ominaisuuksien perusteella, mukaan lukien ihmisestä ihmiseen tarttuvuus, siirtoreitit, kudostrooppisuus ja isäntäalue. Käyttämällä kliinisen taudin vakavuutta virulenssin mittarina tunnistimme potentiaalisia riskitekijöitä käyttämällä ennustavia luokittelupuu- ja satunnaismetsämalleja. Satunnaismetsämenetelmä ennusti kirjallisuudessa määritetyn taudin vaikeusasteen testiaineistosta keskimääräisellä tarkkuudella 89,4 %, kun nollatarkkuus oli 74,2 %. Virustaksonomian lisäksi kyky aiheuttaa systeemistä infektiota oli vahvin vakavan taudin ennustaja. Muita merkittäviä vakavan taudin ennusteita olivat neuraalinen ja/tai munuaistrooppisuus, suora kosketus tai hengitysteitse tapahtuva tarttuvuus ja rajallinen (0 < R 0 � 1) tarttuvuus ihmisestä ihmiseen. Esitämme uudenlaisen, tietojemme mukaan vertailevan näkökulman kaikkien tällä hetkellä tunnettujen ihmisen RNA-viruslajien virulenssiin. Tunnistetut riskitekijät voivat tarjota uusia näkökulmia virulenssin evoluution ymmärtämiseen ja molekulaaristen virulenssimekanismien selvittämiseen. Nämä riskitekijät voivat myös parantaa kansanterveysstrategioiden suunnittelua ja valmiutta osana ihmisten uusia infektioita koskevaa ennustekehystä.

**Tulos**

Kudostrooppisuus ja transmissioekologia ennustavat ihmisen RNA-virusten virulenssia.

**Esimerkki 1.292**

Taustaa: Hallitukset valmistautuvat mahdolliseen influenssapandemiaan. Siksi ne tarvitsevat tietoja arvioidakseen toimenpiteiden mahdollisia vaikutuksia. Väestön käyttämät kasvonsuojaimet voisivat olla helppokäyttöinen ja edullinen toimenpide, jos ne olisivat tehokkaita rutiiniolosuhteissa käytettynä. Arvioimme henkilökohtaisten hengityssuojainten, kirurgisten naamarien ja kotitekoisten naamarien mahdollisuuksia vähentää tartuntaa, kun niitä käytettiin terveiden vapaaehtoisten ja simuloidun potilaan erilaisissa toiminnoissa. Tärkeimmät tulokset: Kaikentyyppiset maskit vähensivät aerosolialtistusta, joka pysyi suhteellisen vakaana ajan mittaan ja johon ei vaikuttanut käytön kesto tai toiminnan tyyppi, mutta jossa oli suurta yksilöllistä vaihtelua. Henkilökohtaiset hengityssuojaimet olivat tehokkaampia kuin kirurgiset naamarit, jotka olivat tehokkaampia kuin kotitekoiset naamarit. Naamarityypistä riippumatta lapset olivat huonommin suojattuja. Ulospäin suuntautuva suojaus (maskin käyttäminen mekaanisen päähän) oli tehottomampi kuin sisäänpäin suuntautuva suojaus (maskin käyttäminen terveillä vapaaehtoisilla).

**Tulos**

Ammattilaisten ja kotitekoiset kasvonaamarit vähentävät altistumista hengitystieinfektioille väestössä.

**Esimerkki 1.293**

Viimeisin Länsi-Afrikassa puhjennut Ebola-viruksen taudinpurkaus - joka on ennennäkemätön tapausten ja kuolemantapausten määrän, maantieteellisen jakautumisen ja vaikutuksen kohteena olevien valtioiden määrän osalta - korostaa tarvetta turvallisille, tehokkaille ja helposti saatavilla oleville viruslääkkeille akuutin Ebola-viruksen (EBOV) taudin (EVD) tai sen jälkitautien hoitoon ja ennaltaehkäisyyn 1 . Mikään viruslääkkeistä ei ole vielä saanut viranomaishyväksyntää tai osoittanut kliinistä tehoa. Tässä kuvataan uuden EBOV-viruksen vastaisen pienimolekyylisen viruslääkkeen, GS-5734:n, joka on adenosiinianalogin monofosforamidaatti-prodrug, löytämistä. GS-5734:llä on antiviraalista aktiivisuutta useita EBOV:n variantteja vastaan solupohjaisissa testeissä. Farmakologisesti aktiivinen nukleosiditrifosfaatti (NTP) muodostuu tehokkaasti useissa ihmisen solutyypeissä, joita inkuboidaan GS-5734:n kanssa in vitro, ja NTP toimii vaihtoehtoisena substraattina ja RNA-ketjun terminaattorina alukkeen pidentämismäärityksissä, joissa käytetään hengityssynktioviruksen RNA-polymeraasin korviketta. GS-5734:n laskimonsisäinen anto kädellisille johti pysyviin tuloksiin Käyttäjät voivat tarkastella, tulostaa, kopioida ja ladata tekstiä sekä louhia tällaisten asiakirjojen sisältöä akateemista tutkimusta varten aina noudattaen kaikkia käyttöehtoja: http://www.nature.com.

**Tulos**

Pienen molekyylin GS-5734 terapeuttinen teho Ebola-virusta vastaan reesusapinoilla.

**Esimerkki 1.294**

Uusi koronavirus (CoV), joka on tunnistettu COVID-19-virukseksi, on etiologinen taudinaiheuttaja, joka on vastuussa 31 Wuhanissa 1-4 alkaneesta vuosien 2019-2020 virusperäisestä keuhkokuume-epidemian puhkeamisesta. Tällä hetkellä 32 ei ole olemassa kohdennettuja hoitoja, ja tehokkaat hoitovaihtoehdot ovat edelleen hyvin rajalliset. Löytääksemme 33 nopeasti johtavia yhdisteitä kliinistä käyttöä varten aloitimme yhdistetyn 34 rakenneavusteisen lääkesuunnittelun, virtuaalisen lääkeseulonnan ja korkean läpimenon seulonnan yhdistelmäohjelman 35 sellaisten uusien johtavien lääkeaineiden tunnistamiseksi, jotka kohdistuvat COVID-19-viruksen pääproteaasiin (M pro ). M pro on keskeinen 36 CoV-entsyymi, jolla on keskeinen rooli viruksen replikaation ja transkription välittämisessä, 37 mikä tekee siitä houkuttelevan lääkekohteen tälle virukselle 5,6 . Tässä tunnistimme tietokoneavusteisen lääkesuunnittelun avulla mekanismiin perustuvan 38 inhibiittorin, N3:n, ja sen jälkeen määritimme COVID-19-viruksen M pro:n kiderakenteen 39 kompleksissa tämän yhdisteen kanssa. Seuraavaksi testasimme rakenteeseen perustuvan virtuaalisen ja korkean läpimenon seulonnan 40 yhdistelmällä yli 41 10 000 yhdistettä, mukaan lukien hyväksytyt lääkkeet, kliinisissä tutkimuksissa olevat lääkeaihioehdokkaat ja muut 42 farmakologisesti aktiiviset yhdisteet M pro -viruksen estäjiksi. Kuusi näistä inhiboi M pro:ta 43 IC50-arvoilla, jotka vaihtelevat välillä 0,67-21,4 μM. Ebselen osoitti myös lupaavaa antiviraalista 44 aktiivisuutta solupohjaisissa testeissä. Tuloksemme osoittavat tämän seulontastrategian tehokkuuden, 45 sillä se voi johtaa sellaisten lääkejohdannaisten nopeaan löytämiseen, joilla on kliinistä potentiaalia sellaisten 46 uusien tartuntatautien torjumiseksi, joihin ei ole saatavilla erityisiä lääkkeitä tai rokotteita. 47 48 Tekijä/rahoittaja. Kaikki oikeudet pidätetään. Uudelleenkäyttö ei ole sallittua ilman lupaa. : bioRxiv preprint CoV:t tarttuvat ihmisiin ja muihin eläinlajeihin aiheuttaen useita erittäin yleisiä ja 49 vakavia tauteja, kuten vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) ja Lähi-idän 50 hengitystieoireyhtymän (MERS) 7 . COVID-19-viruksen genomi koostuu noin 30 000 51 nukleotidista; sen replikaasigeeni koodaa kahta päällekkäistä polyproteiinia, pp1a ja pp1ab, 52 joita tarvitaan viruksen replikaatioon ja transkriptioon 3,4 . Toiminnalliset polypeptidit vapautuvat 53 polyproteiineista laajalla proteolyyttisellä prosessoinnilla, jonka suorittaa pääasiassa 33,8 kDa:n 54 pääproteaasi (M pro ), jota kutsutaan myös 3C:n kaltaiseksi proteaasiksi. M pro pilkkoo polyproteiinia 55 peräti 11 konservoituneesta kohdasta alkaen entsyymin itsensä autolyyttisestä pilkkomisesta 56 pp1a:sta ja pp1ab 8:sta. M pro:n toiminnallinen merkitys viruksen elinkaaressa sekä 57 läheisesti sukua olevien homologien puuttuminen ihmisestä tekevät M pro:sta houkuttelevan 58 kohteen viruslääkkeiden suunnittelulle 9 . 59 Helpottaaksemme kliinistä potentiaalia omaavien viruslääkkeiden nopeaa löytämistä 60 kehitimme strategian, jossa yhdistetään rakenneavusteinen lääkesuunnittelu, virtuaalinen lääkeseulonta ja 61 korkean läpimenon seulonta olemassa olevien lääkkeiden uudelleenkäyttöä COVID-19-viruksen M pro -molekyyliin kohdistamiseksi. 62 Korkean läpimenon aktiivisuusmäärityksen luominen 63 Rekombinantti COVID-19-virus M pro, jolla on natiivit N- ja C-terminaalit, ekspressoitiin 64 Escherichia coli -bakteerissa ja puhdistettiin sen jälkeen (laajennetut tiedot Kuva 1a, b). COVID-19-viruksen M pro:n 65 molekyylipaino on massaspektroskopialla määritettynä 33797,0 Da, 66 mikä vastaa sen teoreettista molekyylipainoa 33796,8 Da. Sen 67 entsymaattisen aktiivisuuden luonnehtimiseksi ja inhibiittorien korkean läpimenon seulonnan suorittamiseksi kehitimme 68 fluoresenssi-resonanssin energiansiirto (FRET) -määrityksen. Tätä varten suunniteltiin ja syntetisoitiin fluoresenssilla leimattu 69 substraatti, MCA-AVLQ↓SGFR-Lys(Dnp)-Lys-NH2, joka on peräisin virusproteaasin N-terminaalisesta auto-70 pilkkomisjaksosta, aika-riippuvaista

**Tulos**

COVID-19-viruksen M pro -rakenne ja sen estäjien löytäminen

**Esimerkki 1.295**

Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus (PHEV) on coronaviridae-heimoon kuuluva betacoronavirus, joka tunkeutuu keskushermostoon (CNS) perifeerisen hermoston kautta ja aiheuttaa enkefalomyeliittiä tai oksentelu- ja kuihtumatautia (VWD) imeville porsaille. Vaikka PHEV:n täydellisiä nukleotidisekvenssejä on tähän mennessä raportoitu muutamia, niitä ei ole kommentoitu. Tässä tutkimuksessa pyrittiin selvittämään PHEV/2008-kannan genomin luonnehdintaa, fylogeneesiä ja patogeenisuutta. PHEV/2008-kannan genomin koko pituus oli 30 684 bp, ja sen G + C-pitoisuus oli 37,27 %. Genomi sisälsi vähintään 11 ennustettua avointa lukukehystä (ORF), joita reunustavat 5′- ja 3′-translitoimattomat alueet (UTR), joiden pituudet ovat 211 ja 289 nukleotidia. Replikaasipolyproteiinien pp1a ja pp1ab, joissa oli 4382 ja 7094 aminohappojäännöstä, ennustettiin pilkkoutuvan 16 alayksiköksi kahden virusproteinaasin avulla. Täydelliseen genomisekvenssiin perustuva fylogeneettinen analyysi osoitti, että PHEV/2008-kanta poikkesi geneettisesti muista tunnetuista PHEV-tyypeistä ja edusti uutta genotyyppiä (GI-1). Lisäksi havaittiin, että PHEV/2008 oli neurotrooppinen ja erittäin patogeeninen 4 viikon ikäisille BALB/c-hiirille. Kaiken kaikkiaan tämä on ensimmäinen yksityiskohtaisesti kommentoitu, täydellinen genomisekvenssi uudentyyppisestä PHEV-kannasta Kiinassa.

**Tulos**

Kiinassa eristetyn sian hemagglutinoituvan enkefalomyeliittiviruskannan genominen karakterisointi ja patogeenisuus.

**Esimerkki 1.296**

Rokotteet, jotka saavat aikaan suojaavan laajasti neutraloivan vasta-ainevasteen (bNAb), ja monoklonaaliset vasta-ainehoidot ovat ratkaisevan tärkeitä virusinfektioiden hoidossa ja ehkäisyssä. Suojaavien neutraloivien vasta-aineiden eristäminen on kuitenkin ollut haastavaa joidenkin virusten osalta, erityisesti sellaisten virusten osalta, joilla on suuri antigeeninen monimuotoisuus tai jotka eivät aiheuta bNAb-vastetta luonnollisen infektion aikana. Tässä esitellään viimeaikaista työtä, jossa käytetään proteiinitekniikan strategioita sellaisten immunogeenien suunnittelemiseksi, jotka saavat aikaan bNAbakteereja tai tuottavat uusia bNAbakteereja. Korostamme rationaalisten, laskennallisten ja kombinatoristen strategioiden käyttöä ja arvioimme näiden lähestymistapojen mahdollisuuksia uusien rokotteiden ja immunoterapeuttisten lääkkeiden kehittämisessä.

**Tulos**

Proteiinitekniikan strategiat virusrokotteiden ja immunoterapioiden kehittämiseksi

**Esimerkki 1.297**

Huomattava osa toistaiseksi selittämättömistä hengitystiesairauksista liittyy ihmisen metapneumovirusinfektioon (hMPV). Tätä virusta löydettiin myös potilaista, joilla oli vaikea akuutti hengitystieoireyhtymä (SARS). HMPV-infektion dynamiikan ja siihen liittyvien vaurioiden määrittämiseksi kuusi cynomolgus-makakkia (Macaca fascicularis) rokotettiin hMPV:llä ja tutkittiin patologisilla ja virologisilla määrityksillä. Ne lopetettiin 5 (n ؍ 2) tai 9 (n ؍ 2) päivää tartunnan jälkeen (dpi) tai niitä seurattiin 14 dpi:een asti (n ؍ 2). Viruksen erittyminen oli suurimmillaan 4 dpi:ssä ja väheni nollaan 10 dpi:hen mennessä. Viruksen lisääntyminen rajoittui hengitysteihin, ja siihen liittyi vähäisiä tai lieviä, monitahoisia eroosio- ja tulehdusmuutoksia hengitysteiden johtokäytävissä sekä makrofagien määrän lisääntyminen keuhkorakkuloissa. Viruksen ilmentymistä havaittiin pääasiassa säikeisepiteelisolujen apikaalisella pinnalla koko hengitysteiden alueella ja harvemmin tyypin 1 pneumosyyteissä ja alveolimakrofageissa. Sekä solutropismi että hengitystievauriot erosivat SARSiin liittyvän koronavirusinfektion aiheuttamista, mikä sulkee pois hMPV:n SARSin ensisijaisena aiheuttajana. Tämä tutkimus osoittaa, että hMPV on hengitysteiden patogeeni, ja osoittaa, että viruksen replikaatio on lyhytikäistä, polarisoitunut apikaalipinnalle ja tapahtuu pääasiassa säikeisissä hengitysteiden epiteelisoluissa.

**Tulos**

Lyhyt tiedonanto Kokeellinen ihmisen metapneumovirusinfektio Cynomolgus-makakissa (Macaca fascicularis) johtaa viruksen lisääntymiseen säikeissä olevissa epiteelisoluissa ja pneumosyyteissä sekä niihin liittyviin vaurioihin koko hengitysteiden alueella.

**Esimerkki 1.298**

Onkolyyttinen virushoito perustuu virusten kykyyn infektoida ja tappaa tehokkaasti kasvainsoluja tuhoamatta normaaleja kudoksia. Vaikka joillakin viruksilla näyttää olevan luontainen mieltymys kasvainsoluihin, useimmat virukset vaativat trooppisuuden muuttamista, jotta ne voivat erityisesti päästä ja lisääntyä tällaisissa soluissa. Tässä katsauksessa pyritään kuvaamaan transduktiivisia kohdentamisstrategioita, joita nykyisin käytetään virusten suuntaamiseksi erityisesti kohti kasvainsolujen pintareseptoreita. Voidaan erottaa kolme päästrategiaa: i) uuden kohdentamisspesifisyyden sisällyttäminen viruksen pintaproteiiniin, ii) telineen sisällyttäminen viruksen pintaproteiiniin kohdentamisosien kiinnittämisen mahdollistamiseksi ja iii) bispesifisten sovittimien käyttö viruksen kohdentamiseksi kasvainsolun tiettyyn osaan. Kunkin strategian keskeisiä ominaisuuksia, etuja ja rajoituksia käsitellään ja annetaan esimerkkejä. Koska virukset voivat aiheuttaa pysyvän, monikierroksisen infektion - mikä on toivottava ominaisuus kasvainten hävittämiseksi - erityistä huomiota kiinnitetään viruksiin, jotka on suunniteltu siten, että ne kohdistuvat itsekseen biospesifisen sovitinproteiinin genomisella ilmentymisellä.

**Tulos**

Virusten uudelleenkohdentaminen onkolyyttisten aineiden tuottamiseksi

**Esimerkki 1.299**

Mimotooppien tietokannat ja laskennalliset työkalut ovat olleet tärkeä osa faaginäytön tutkimusta. Tässä asiakirjassa tarkastellaan viittä erityistä tietokantaa ja kahdeksaatoista algoritmia, ohjelmaa ja verkkopalvelinta sekä niiden sovelluksia. Vaikka näitä bioinformatiikan resursseja on käytetty laajalti kohteeseen liittymättömien peptidien poissulkemiseen, pienten molekyylien ja proteiinien välisten vuorovaikutusten kuvaamiseen ja proteiini-proteiini-interaktioiden kartoittamiseen, monet ongelmat odottavat vielä ratkaisua. Kun näitä työkaluja kehitetään, niiden odotetaan palvelevan faaginäytön yhteisöä paremmin.

**Tulos**

molekyylit Bioinformatiikan resurssit ja työkalut faagien näyttämiseen

**Esimerkki 1.300**

Nykyinen COVID-19-pandemia leviää nopeasti ympäri maailmaa. Ensimmäinen lääkäri, joka ilmoitti tästä uudesta taudista, oli silmälääkäri: tämä on esimerkki silmälääkärin roolista tartuntatautipandemiassa. Tässä tarkastelemme, miten SARS-Cov2 vaikuttaa silmään, ja keskustelemme silmälääkäreitä koskevista vaikutuksista. eikä sitä koskaan arvioida lääketieteellisesti. (II) Toistaiseksi meillä ei ole tietoja siitä, kuinka monelle sidekalvotulehduspotilaalle (jotka kävivät tai eivät käyneet silmätautien päivystysosastolla) kehittyi COVID-19 seuraavien päivien aikana. (III) COVID-19-epidemian aikana silmälääkärit saattavat joutua käsittelemään potilaita, joilla on muunlainen sidekalvotulehdus, eikä heillä ole ohjeita erotusdiagnoosin tekemisestä. J o u u r n a l P r e -p r o o f 3 Lisäksi viimeaikaiset tutkimukset viittaavat siihen, että sidekalvo voi olla mahdollinen tartuntareitti [5, 6] . SARS-CoV-2:n esiintyminen sairastuneiden potilaiden sidekalvopussissa on raportoitu myös ei-vertaisarvioidussa retrospektiivisessä kohorttitutkimuksessa [7] . Anekdoottiraportit viittasivat lisäksi siihen, että kun silmien suojausta ei käytetty, virus saattoi mahdollisesti siirtyä myös aerosolikontaktissa sidekalvon kanssa ja aiheuttaa infektion II [7] . SARS-CoV-2:n mahdollinen tarttuminen sidekalvon kautta on kuitenkin kiistanalaista. WHO ja American Academy of Ophthalmology (AAO) III suosittelevat kuitenkin silmiensuojainten (esim. suojalasien tai suojakilven) käyttöä hoidettaessa (mahdollisesti) COVID-19-tartunnan saaneita potilaita pisaratartunnan estämiseksi. Ei voi tarpeeksi korostaa, että ennen silmälääkärin tarkastusta on ehdottomasti tiedettävä, onko potilaalla COVID-19-oireita ja onko potilas ollut äskettäin kosketuksissa vahvistetun COVID-19-tapauksen kanssa. Kaikissa Hongkongin julkisissa sairaaloissa COVID-19-epidemian puhkeamisen aikana käyttöön otetun strategian tartuntojen ehkäisemiseksi silmätautien poliklinikoilla pitäisi toimia mallina muille silmälääkärikäytännöille [8] . Silmälääkärit ja potilaat käyttivät kirurgisia naamareita. Tiukan käsihygienian noudattaminen ja suojalasien tai kasvonsuojainten käyttö on erittäin suositeltavaa jokaiselle silmälääkärille. Koska silmälääkärit ovat lähellä potilaiden nenää ja suuta ja altistuvat mahdollisesti kyynelille, jotka saattavat sisältää virusta, he ovat erityisen alttiita sairastumaan tautiin. Vuonna 2006 Hongkongissa puhkesi suuri SARS-epidemia. Silmälääkärit ryhtyivät samanlaisiin ennaltaehkäiseviin toimenpiteisiin (tiheä käsienpesu alkoholipitoisella klooriheksidiinikäsihuuhteella, kirurgisten/N95-hengityssuojainten sekä käsineiden ja vedenkestävien pukujen ja visiirien käyttö) estääkseen SARS-infektion tarttumisen tai leviämisen [9]. Kun otetaan huomioon, että nämä toimenpiteet estivät henkilökunnan ja potilaiden tartunnan saamisen SARS-epidemian aikana, suosittelemme, että nämä toimenpiteet olisi otettava käyttöön myös tämän pandemian aikana, kun ei ole kyse silmälääketieteellisestä tutkimuksesta. Lisäksi potilaan olisi käytettävä maskia ja käsineitä tutkimuksen aikana.

**Tulos**

Journal Pre-proof COVID-19-pandemia silmälääkärin näkökulmasta COVID-19-pandemia silmälääkärin näkökulmasta

**Esimerkki 1.301**

Polyoksometalaatilla (POM) on lupaavia viruslääkkeitä. Sillä on laaja-alainen inhiboiva kyky, korkea tehokkuus ja vähäinen myrkyllisyys. Kokeelliset määritykset osoittavat, että titaania sisältävillä polyoksometalaateilla on influenssaviruksen vastainen aktiivisuus. Tässä artikkelissa selvitetään seuraavien viiden di-Ti-substituoidun polyoksotungstaatin isomeerien sitoutumismekanismeja: [α-1,2-PTi 2 W 10 O 40 ] 7-(α-1,2), [α-1,6-PTi 2 W 10 O 40 ] 7-(α-1,6), [α-1,5-PTi 2 W 10 O 40 ] 7-(α-1,5), [α-1,4-PTi 2 W 10 O 40 ] 7-(α-1,4) ja [α-1,11-PTi 2 W 10 O 40 ] 7-(α-1,11), viidelle influenssavirus A:n neuraminidaasin (FluV-A NA) alatyypille tutkittiin vesiliuoksessa molekyylidockaus- ja molekyylidynamiikkatutkimusten avulla. Tulokset osoittavat, että isomeeri α-1,2 on muita isomeerejä parempi mahdollinen neuraminidaasin estäjä. Positiivisesti varautuneet arginiinijäämät NA:n aktiivisen kohdan ympärillä voisivat mukautua negatiivisesti varautuneen POM:n vaikutuksesta ja voisivat muodostaa suolasilta- ja vetysidevuorovaikutuksia POM:n kanssa. POM/NA-kompleksien sitoutumisvapaat energiat vaihtelevat välillä -5,36 - -8,31 kcal mol -1 . Sähköstaattisten vuorovaikutusten on todettu olevan liikkeellepaneva voima POM:n ja NA:n sitoutumisprosessissa. Konformaatioanalyysi osoittaa, että POM:lla on taipumus sitoutua ensisijaisesti N1:n ja N8:n kanssa aktiivisen taskun reunalla, mikä aiheuttaa jäännöksen 347 ja silmukan 150 käsittävän pinssirakenteen konformaatiomuutoksen. Sen sijaan N2:n, N9:n ja N4:n aktiivitaskut ovat tilavampia, mikä mahdollistaa POM:n pääsyn suoraan aktiivitaskuihin ja ankkuroitumisen sinne lujasti. Tämä tutkimus osoittaa, että negatiivisesti varautunut ligandi, kuten POM, voisi aiheuttaa NA:n aktiivisen paikan uudelleenjärjestäytymisen ja korostaa POM:ää lupaavana NA:n estäjänä huolimatta NA:n yhä lisääntyvistä mutanteista. influenssavirus A, neuraminidaasi, polyoksometalaatti, telakointi, molekyylidynamiikka Citation: Wang J P, Hu D H, Su Z M. Molekyylisimulointitutkimus [α-PTi 2 W 10 O 40 ] 7:n sitoutumismekanismista sen lupaavasta laajakirjoisesta inhiboivasta aktiivisuudesta FluV-A-neuraminidaasiin.

**Tulos**

Artikkeli Molekyylisimulointitutkimus [α-PTi 2 W 10 O 40 ] 7:n sitoutumismekanismista sen lupaavan laajakirjoisen FluV-A-neuraminidaasia estävän vaikutuksen vuoksi.

**Esimerkki 1.302**

Ihmisperäiset hengitystievirukset tarttuvat luonnonvaraisiin apinoihin eri puolilla Afrikkaa, joskus tappavasti. Tässä raportoimme kahden erilaisen ihmisen hengitystieviruksen, ihmisen metapneumoviruksen (MPV; Pneumoviridae: Metapneumovirus) ja ihmisen respirovirus 3:n (HRV3; Paramyxoviridae; Respirovirus, joka tunnettiin aiemmin nimellä parainfluenssavirus 3), samanaikaisista taudinpurkauksista kahdessa simpanssiyhteisössä samassa metsässä Ugandassa joulukuussa 2016 ja tammikuussa 2017 (Pan troglodytes schweinfurthii). Viruksia ei esiintynyt ennen taudinpurkauksia, mutta kumpaakin esiintyi yhden yhteisön sairastuneissa simpansseissa taudinpurkausten aikana. Kliiniset oireet ja karkeat patologiset muutokset sairastuneilla simpansseilla vastasivat läheisesti ihmisillä yleisesti havaittuja oireita ja patologiaa kunkin viruksen osalta. Epidemiologinen mallinnus osoitti, että MPV ja HRV3 olivat samalla tavalla tarttuvia (R 0 1,27 ja 1,48), mutta MPV aiheutti 12,2 prosentin kuolleisuuden pääasiassa pikkulapsille ja vanhemmille simpansseille, kun taas HRV3 ei aiheuttanut suoraa kuolleisuutta. Nämä tulokset ovat johdonmukaisia sen kanssa, että MPV:n virulenssi on suurempi kuin HRV3:n virulenssi ihmisillä, vaikka sekä MPV että HRV3 aiheuttavat merkittävän maailmanlaajuisen tautitaakan. Molemmat virukset klusteroituivat fylogeneettisesti tunnettujen ihmisvarianttien ryhmiin, ja MPV oli läheistä sukua vuoristogorilloista (Gorilla beringei beringei) peräisin olevalle tappavalle vuoden 2009 muunnokselle, mikä viittaa kahteen itsenäiseen ja samanaikaiseen käänteiseen zoonoosiperäiseen alkuperään joko suoraan ihmisestä tai väli-isäntien kautta. Nämä havainnot laajentavat tietämystämme ihmisperäisistä viruksista, jotka uhkaavat luonnonvaraisia simpansseja, ja viittaavat siihen, että tällaiset virukset voidaan erottaa toisistaan niiden vertailevan epidemiologisen dynamiikan ja patogeenisuuden perusteella luonnonvaraisissa apinoissa. Tuloksemme varoittavat myös olettamasta, että samanaikaisissa taudinpurkauksissa ei ole yhteistä syy-yhteyttä.

**Tulos**

Erilaisten ihmisperäisten virusten aiheuttamat samanaikaiset hengitystiesairauksien puhkeamiset luonnonvaraisissa simpansseissa.

**Esimerkki 1.303**

Sian hemagglutinoivan enkefalomyeliitin (PHE) aiheuttaa koronavirus hemagglutinoivan enkefalomyeliitin virus (PHE-CoV), ja PHE-CoV:n viimeaikainen nopea leviäminen porsaissa monissa maissa korostaa PHE-CoV-rokotteen kiireellistä tarvetta. Tässä käytetään hiirimallia inaktivoitujen ja PHE-CoV:n DNA-rokotteiden aiheuttamien humoraalisten ja soluvälitteisten immuunivasteiden arvioimiseksi, jotta voidaan määritellä PHE-CoV:ltä suojautumiseen liittyvät immuunikorrelaatit. Inaktivoitu rokote koostui puhdistetusta PHE-CoV:stä ja alumiinihydroksidigeelistä (alum), joka valittiin adjuvantiksi, koska se on pitkään ollut turvallinen ihmisillä käytettynä. PHE-CoV-dna-rokote valmistettiin subkloonaamalla PHE-CoV:n S1-geeni pVAX1-vektoriin, jolloin syntyi rekombinanttiplasmidi pV-S1. Tuloksemme osoittivat, että inaktivoitu PHE-CoV-rokote (IPV) sai aikaan korkean humoraalisen immuniteetin tason, mikä johti hyvään suojaustehokkuuteen PHE-CoV-haastetta vastaan. IPV indusoi seerumin vasta-aineiden IgG1-alaluokkaa ja sytokiini interleukiini-4:n (IL-4) ilmentymistä, mikä viittaa siihen, että IPV synnytti pääasiassa Th2-tyyppisen immuunivasteen. DNA-rokotteen havaittiin välittävän ensisijaisesti soluvälitteisen immuunivasteen, jossa IgG2a:n ja sytokiinien IL-2 ja gammainterferoni (IFN-␥) pitoisuudet olivat korkeat. Hiiret, jotka rokotettiin kahdesti DNA-rokotteella ja tehostettiin IPV:llä, pystyivät kuitenkin saamaan riittävän neutraloivan vasta-ainevasteen elävää PHE-CoV:tä vastaan, IgG1- ja IgG2a-tasojen vaihtelu oli vähäistä, ja niissä havaittiin korkeita IL-2- ja IL-4-tasoja. Tämä vaste saattaa aktivoida sekä B- että T-soluja spesifisen humoraalisen ja soluvälitteisen immuunivasteen aikaansaamiseksi, joka puolestaan voi saada aikaan fagosyyttien välittämää puolustusta PHE-CoV-infektioita vastaan viruksen poistamiseksi.

**Tulos**

Kahden hemagglutinoivaa enkefalomyeliittiä aiheuttavan koronaviruksen rokotekandidaatin vertaileva arviointi hiirillä.

**Esimerkki 1.304**

Immunoglobuliineja (Igs), joita kutsutaan myös vasta-aineiksi, on kaikkien imettävien lajien maidossa ja ternimaidossa. Ig:t jaetaan luokkiin, joilla on erilaiset fysikaalis-kemialliset rakenteet ja biologiset aktiivisuudet. Tärkeimmät Ig-luokat nauta- ja ihmismaidossa ovat IgA, IgG ja IgM. Naudan ternimaidon Ig:t tarjoavat vastasyntyneelle vasikalle passiivisen immuunisuojan mikrobiperäisiä infektioita vastaan, kunnes vasikan oma immuunijärjestelmä kypsyy. Tuotantoeläimille suunniteltuja kolostraalisia Ig-valmisteita on ollut kaupallisesti saatavilla jo useita vuosia. Naudan ternimaidon mahdolliset terveysvaikutukset ovat lisänneet ternimaitoon perustuvien ravintolisien valmistusta ja markkinointia myös ihmisravinnoksi. Lisäksi ternimaitoon voidaan tuottaa erityisiä mikrobien vasta-aineita immunisoimalla lehmiä patogeenisistä mikro-organismeista valmistetuilla rokotteilla. Nämä vasta-aineet voidaan konsentroida ja käyttää niin sanottujen immuunimaitovalmisteiden valmistukseen. Tällaiset valmisteet ovat osoittautuneet tehokkaiksi esimerkiksi rotaviruksen, Shigella fl exnerin, Escherichia coli -bakteerin, Clostridium diffi cilen, Streptococcus mutansin, Cryptosporidium parvum -bakteerin ja Helicobacter pylori -bakteerin aiheuttamien eläin- ja ihmisperäisten infektioiden ehkäisyssä. Niiden terapeuttinen teho vaikuttaa kuitenkin rajalliselta. Muutamia immuunimaitotuotteita on kaupallistettu, ja tulevaisuudessa on odotettavissa lisää tuotteita, joita voidaan käyttää esimerkiksi antibioottihoidon tukena ja sairaalainfektioiden ehkäisyssä.

**Tulos**

Naudanmaidon immunoglobuliinit ihmisen mikrobiperäisiä sairauksia vastaan

**Esimerkki 1.305**

Taustaa: (MERS-CoV) on esiintynyt terveydenhuollon toimintaympäristöissä ja siihen on osallistunut terveydenhuollon työntekijöitä. Kuvailemme taudinpurkauksen esiintymistä terveydenhuollon työntekijöiden keskuudessa ja yritämme luonnehtia riskialttiita altistumisia, jotta tulevia infektioiden torjuntatoimia voitaisiin parantaa. Menetelmät: Tähän tutkimukseen sisältyi indeksitapaus ja kaikki HCW-kontaktit. Kaikki kontaktit tutkittiin MERS-CoV:n varalta polymeraasiketjureaktiolla. Tulokset: Tutkimusjakson aikana vuonna 2015 indeksitapaus oli 30-vuotias filippiiniläinen sairaanhoitaja, jolla oli ollut suojaamaton altistuminen MERS-CoV-positiiviselle tapaukselle 15. toukokuuta 2015 ja jolla oli useita negatiivisia testejä MERS-CoV:lle. Viikkoja myöhemmin hänellä todettiin keuhkotuberkuloosi ja MERS-CoV-infektio. Yhteensä 73 työntekijää asetettiin karanteeniin 14 päiväksi, ja nenänielusta otettiin pyyhkäisynäytteet 2., 5. ja 12. päivänä altistumisen jälkeen. Näistä kontakteista 3 (4 %) todettiin positiivisiksi MERS-CoV:n suhteen. Lisäksi 18 muuta henkilökuntaan kuuluvaa joutui karanteeniin ja heiltä otettiin MERS-CoV-näytteet. Neljäs tapaus vahvistettiin positiiviseksi 12. päivänä. Myöhemmät kontaktitutkimukset paljastivat neljännen sukupolven tartunnan. Vain 7 (4,5 %) kaikista 153 kontaktista oli positiivisia MERS-CoV:n suhteen. Päätelmät: Terveydenhuoltohenkilöstön rooli MERS-CoV:n leviämisessä on monimutkainen. Vaikka useimmat MERS-CoV-tartunnan saaneet terveydenhuollon työntekijät ovat oireettomia tai heillä on lievä tauti, kuolemaan johtavia infektioita voi esiintyä, ja terveydenhuollon työntekijöillä voi olla merkittävä rooli terveydenhuoltolaitosten tautitapausten leviämisessä. Tämä tutkimus korostaa tarvetta tarkistaa jatkuvasti infektioiden torjuntaohjeita, jotka liittyvät HCW:n rooliin MERS-CoV:n leviämisessä terveydenhuollon tautipesäkkeissä, erityisesti kun on kyse monimutkaisista kysymyksistä, jotka koskevat riskialtistumisen määritelmää, testattavia henkilöitä ja MERS-CoV-testaustiheyttä, karanteenin asettamista ja sen kestoa koskevia kriteerejä sekä selvityskriteerejä ja aktiiviseen palvelukseen paluuta koskevia kriteerejä.

**Tulos**

Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen leviäminen terveydenhuollon työntekijöiden keskuudessa: Tartuntojen torjunnan kannalta

**Esimerkki 1.306**

Terveydenhuollon toimintaympäristöillä on ollut merkittävä rooli Ebola-viruksen (EBOV) tautipesäkkeiden leviämisessä. Terveydenhuollon työntekijöillä on suuri riski joutua kosketuksiin EBOV-tartunnan saaneiden potilaiden kanssa, erityisesti jos turvatoimia ei noudateta tiukasti. Teimme serotutkimuksen määrittääksemme EBOV-antigeenien seroprevalenssin useiden EBOV-antigeenien suhteen Kongon demokraattisen tasavallan Boenden terveysvyöhykkeen terveydenhuoltohenkilöstön keskuudessa, jossa EBOV-epidemia puhkesi vuonna 2014. Haastattelut ja näytteet kerättiin 565:ltä suostumuksensa antaneelta terveydenhuollon työntekijältä. Kaiken kaikkiaan 234 (41,4 %) ilmoittautuneista HCW:stä oli reaktiivisia vähintään yhdelle EBOV-proteiinille: 159 (28,1 %) oli seroreaktiivisia anti-glykoproteiini-immunoglobuliini G:n (IgG) suhteen, 89 (15,8 %) oli seroreaktiivisia anti-nukleoproteiini IgG:n suhteen ja 54 (9,5 %) oli VP40-positiivisia. Lisäksi 16:n (2,8 %) HCW:n seerumi osoitti neutralointikykyä. Nämä tiedot osoittavat, että merkittävällä osalla HCW:stä on kyky neutraloida virus, vaikka he eivät ole koskaan saaneet Ebola-virustautioireita, mikä korostaa tärkeää ja huonosti dokumentoitua EBOV-infektion ja sen etenemisen näkökohtaa.

**Tulos**

The Journal of Infectious Diseases Ebolaviruksen serologiset merkkiaineet Kongon demokraattisen tasavallan terveydenhuollon työntekijöiden keskuudessa

**Esimerkki 1.307**

Ihmisen torovirus (HTV) ja Breda-virus (BRV), jotka kuuluvat Coronaviridae-heimon torovirussukuun, ovat vakiintuneita ihmisten ja nautojen tartunnanaiheuttajia. Breda-viruksen serotyypin 2 (BRV-2) hemagglutiniiniesteraasigeeni (HE-geeni) on tunnistettu, ja BRV:n serotyypin 1 (BRV-1) genomin nukleotidisekvenssi, joka sisältää viruksen rakenneproteiinien avoimet lukukehykset, on raportoitu, ja siinä on havaittu 1,25 kb:n kokoinen geeni, jonka nukleotidisekvenssi on identtinen BRV-2:n HE-geenin kanssa. Tässä tutkimuksessa monistimme 1,2 kb:n HE-geenin HTV-genomista käyttämällä pitkää RT-PCR:ää ja sekvensoimme amplikonin suoraan. Nukleotiditasolla HTV:n HE-geeni on 85-prosenttisesti identtinen BRV-1:n ja BRV-2:n HE-geenien kanssa ja 89-prosenttisesti identtinen BEV:n X-pseudogeenisekvenssin kanssa. BRV-1:n ja HTV:n HE-geenejä sisältävät 1,25 kb:n amplikonit kloonattiin ja ekspressoitiin bakulovirusjärjestelmässä, ja proteiinit puhdistettiin natriumdodekyylisulfaatti-polyakryyliamidigeelielektroforeesilla. Merisioilla näitä proteiineja vastaan valmistetut hyperimmuuniseerumit reagoivat sekä naudan toroviruksen (BTV) että ihmisen toroviruksen (HTV) antigeenien kanssa. Immunoblotissa ne reagoivat spesifisesti 65 kDa:n proteiinin kanssa, joka vastaa kooltaan toroviruksen HE-proteiinia. Lisäksi hyperimmuuni seerumit, mutta eivät preimmuuni seerumit, reagoivat immunoblot- ja dot blot -analyysissä BTV-positiivisten ja HTV-positiivisten ulostenäytteiden kanssa. Immunoelektronimikroskopiassa (IEM) hyperimmuuni seerumit aggregoivat BTV-positiivisista, ripulista kärsivien vasikoiden näytteistä ja HTV-positiivisista potilaiden näytteistä peräisin olevia toroviruksen hiukkasia. Ihmisten toipumisvaiheen seerumit ja gnotobiottisten vasikoiden infektion jälkeiset seerumit reagoivat immunoblotissa ekspressoituneen 65 kDa:n proteiinin kanssa. HTV:n ilmentämällä HE-proteiinilla on merkittäviä diagnostisia mahdollisuuksia. : S 0 1 6 8 -1 7 0 2 ( 9 9 ) 0 0 0 0 8 8 -X

**Tulos**

Ihmisen toroviruksen ja Breda-viruksen uudet hemagglutiniiniesteraasigeenit.

**Esimerkki 1.308**

Mikrobiologisen tuloksen ja rintakehän tietokonetomografiassa (TT) todetun röntgenkuvauksen aktiivisuuden välisestä korrelaatiosta keuhkotuberkuloosiepäilyissä tiedetään vain vähän, vaikka TT:tä käytetään kliinisesti laajalti. Käytimme sairauskertomuksista saatuja monikeskuksisia retrospektiivisiä tietoja, joissa keskityttiin diagnostiseen suorituskykyyn varmassa PTB:ssä. Luokittelimme potilaat neljään ryhmään radiografisen aktiivisuuden mukaan: varmasti aktiivinen, todennäköisesti aktiivinen, epämääräinen aktiivisuus ja todennäköisesti inaktiivinen. Mukana olleista 650 potilaasta 316:lla oli kulttuurilla vahvistettu PTB; 190 (29,2 %), 323 (49,7 %), 70 (10,8 %) ja 67 (10,3 %) luokiteltiin vastaavasti ryhmiin, jotka olivat varmasti aktiivisia, todennäköisesti aktiivisia, määrittelemättömän aktiivisia ja todennäköisesti inaktiivisia. Vastaavat havaitut viljelyluvut CT-radiografisen aktiivisuuden osalta olivat 61,6 %, 60,7 %, 4,3 % ja 0 %. Kun viljelylukujen lisäksi TB-PCR- ja histologiset tulokset otettiin huomioon varmana PTB:nä, se osoitti 66,6 %, 67,2 %, 14,3 % ja 0 % kunkin CT-radiografisen aktiivisuuden osalta. Mitä tulee diagnostiseen suorituskykyyn lopullisen PTB:n osalta, radiografinen PLOS ONE | https://doi.

**Tulos**

Mikrobiologisen tuoton ja rintakehän tietokonetomografian radiografisen aktiivisuuden välinen korrelaatio keuhkotuberkuloosia epäiltäessä.

**Esimerkki 1.309**

Trikotekeenimykotoksiini deoksinivalenoli (DON), joka on tunnettu translaation estäjä, aiheuttaa ribosomaalisen RNA:n (rRNA) pilkkoutumista. Tässä luonnehdimme tätä prosessia suhteessa (1) spesifisiin 18S- ja 28S-ribosomaalisen RNA:n pilkkoutumiskohtiin ja (2) spesifisten ylävirran signaalielementtien identiteettiin tässä reitissä. Kapillaarielektroforeesi osoitti, että DON niinkin alhaisissa pitoisuuksissa kuin 200 ng/ml aiheutti selektiivistä rRNA:n pilkkoutumista 6 tunnin kuluttua ja että 1000 ng/ml aiheutti pilkkoutumista 2 tunnin kuluessa. Northern blot -analyysi osoitti, että DON-altistus indusoi kuusi rRNA:n pilkkoutumisfragmenttia 28S rRNA:sta ja viisi fragmenttia 18S rRNA:sta. Kun selektiivisiä kinaasi-inhibiittoreita käytettiin mahdollisten ylävirran signaalien tunnistamiseksi, havaittiin, että RNA-aktivoitu proteiinikinaasi (PKR), hematopoieettinen solukinaasi (Hck) ja p38 olivat välttämättömiä rRNA:n pilkkoutumiselle, kun taas c-Junin N-terminaalinen kinaasi ja solunulkoisen signaalin säätelemä kinaasi eivät olleet. Lisäksi rRNA:n pirstoutumista estivät p53:n estäjät pifitriini-a ja pifitriini-m sekä pan-kaspaasi-inhibiittori Z-VAD-FMK. Samanaikainen apoptoosi vahvistettiin akridiinioranssi/etidiumbromidivärjäyksellä ja virtaussytometrialla. DON aktivoi kaspaasit 3, 8 ja 9, mikä viittaa sekä ekstrinsisten että intrinsisten apoptoosireittien mahdolliseen yhteistoimintaan rRNA:n pilkkomisessa. Satratoksiini G (SG), anisomysiini ja risiini indusoivat myös spesifisiä rRNA:n pilkkoutumisprofiileja, jotka olivat samanlaisia kuin DON:n, mikä viittaa siihen, että ribotoksiineilla saattaa olla yhteinen konservoitu rRNA:n pilkkoutumismekanismi. Kaiken kaikkiaan DON:n indusoima rRNA:n pilkkoutuminen liittyy todennäköisesti läheisesti apoptoosin aktivoitumiseen, ja siihen näyttää liittyvän PKR/Hck /p38/p53/ kaspaasi 8/ 9/ kaspaasi 3:n peräkkäinen aktivoituminen.

**Tulos**

Deoksinivalenolin aiheuttaman ribosomaalisen RNA:n pilkkoutumisen kohteet ja solunsisäiset signaalimekanismit

**Esimerkki 1.310**

Uusi koronavirus (SARS-CoV-2) on tunnistettu tammikuussa 2020 COVID-19-keuhkokuumeen aiheuttajaksi, joka puhkesi vuoden 2019 lopulla Wuhanissa Kiinassa. SARS-CoV-2:n todettiin genomianalyysin perusteella olevan läheistä sukua SARS-CoV:lle. SARS-CoV:n reseptorina hyödyntämän angiotensiinikonvertaasin 2-proteiinin (ACE2) todettiin helpottavan SARS-CoV-2:n tartuntaa, joka käynnistyy piikkiproteiinin sitoutumisesta ihmisen ACE2:een. Käyttämällä homologiamallinnusta ja molekyylidynamiikan (MD) simulointimenetelmiä raportoimme tässä yksityiskohtaisen rakenteen ACE2:sta kompleksissa SARS-CoV-2:n piikkiproteiinin reseptoria sitovan domainin (RBD) kanssa. Ennustettu malli on hyvin yhdenmukainen kokeellisesti määritettyjen kompleksirakenteiden kanssa. Kiderakenteissa raportoidun sitoutumisrajapinnan lisäksi kaikki atomit kattavista MD-simulaatioista paljastui uusia uskottavia sitoutumisasentoja. Simulointitiedot auttoivat tunnistamaan kompleksin rajapinnan kriittiset jäännökset ja antoivat lisätietoja SARS-CoV-2 RBD:n ja ihmisen ACE2:n välisistä vuorovaikutuksista. Kaksi rotan ACE2:ta jäljittelevää mutanttia mallinnettiin mutaatioiden vaikutusten tutkimiseksi RBD:n sitoutumiseen ACE2:een. Simuloinnit osoittivat, että N-terminaalinen kierre ja K353 ovat erittäin tärkeitä kompleksin tiukan sitoutumisen kannalta, ja mutanttien havaittiin muuttavan CoV2-RBD:n sitoutumistapoja ACE2:een.

**Tulos**

Laskennalliset simulaatiot paljastavat ihmisen ACE2:n ja SARS-CoV-2:n piikkiproteiinin reseptoria sitovan domeenin välisen sitoutumisdynamiikan.

**Esimerkki 1.311**

Ihmisen neutrofiileissä ja epiteelisoluissa esiintyvää immunoglobuliinin kaltaista CD66-antigeeniperhettä käytetään patogeenisten Neisseriae-bakteerien ilmentämien adheesiinien reseptoreina. N . gonorrhoeae-kanta MS11 voi ilmentää näiden adheesiinien 11 isomuotoa, joita kutsutaan opasiteetin yhteydessä oleviksi (Opa) proteiineiksi. Kukin MS11:n Opa-proteiini tunnistaa eri CD66-reseptorien spektrin. CD66-Opa-sitoutumista välittää reseptorin NH 2 -terminaalinen domeeni ja se tapahtuu proteiini-proteiini-interaktioiden kautta. Tässä raportissa olemme tutkineet CD66- ja Opa-proteiiniperheiden välisen sitoutumisen molekulaarista perustaa kartoittamalla CD66-reseptorien aminohappoja, jotka määräävät Opa-proteiinin sitoutumisen. Suoritimme homologiskannausmutageneesin CD66e:n, joka sitoo useita Opa-variantteja, ja CD66b:n, joka ei sitoudu mihinkään, välillä ja testasimme sekä CD66e:n aiheuttamaa toimintakyvyn menetystä että CD66b:n aiheuttamaa toimintakyvyn lisääntymistä liuosmäärityksissä ja määrityksissä, joissa käytettiin epiteelisolujen ilmentämiä täyspitkiä reseptoreita. Havaitsimme, että CD66e:n N-domeenin kolme jäännöstä tarvitaan Opa-proteiinireseptorin maksimaaliseen aktiivisuuteen. Opa-proteiinit, jotka tunnistavat saman spektrin natiivisia CD66-molekyylejä, osoittivat erilaista sitoutumista reseptoreihin, joilla oli submaksimaalinen aktiivisuus, mikä osoittaa, että näiden Opa-proteiinien sitoutumisominaisuudet ovat itse asiassa hieman erilaiset. Nämä tiedot ovat ensimmäinen askel kohti Opa-CD66-vuorovaikutuksen rakenteellisten vaatimusten selvittämistä.

**Tulos**

Homologia-skannaava mutageneesi paljastaa CD66-reseptorin jäännökset, jotka ovat välttämättömiä Neisserial Opa -proteiinin sitoutumiselle.

**Esimerkki 1.312**

Taustaa: Hengitystievirusinfektion oikea-aikainen tunnistaminen on tärkeää, jotta voidaan vähentää antibioottien epäasianmukaista käyttöä ja toteuttaa asianmukaiset hoito- ja/tai infektioiden torjuntamenettelyt. Tämän vuoksi multipleksoitu PCR-määritys on tullut vakioksi monissa virologian laboratorioissa. Tavoitteet: Vertailla Seeplex RV15 -testiä (nykyinen testi) kahteen uudemman sukupolven multipleksimääritykseen, Anyplex II RV16:een ja xTAG-hengitystieviruspaneeliin. Tutkimusasetelma: Kaikilla kolmella määrityksellä testattiin kaksisataa kolme retrospektiivistä ja 36 prospektiivista hengitystievirusnäytettä. Näytteet katsottiin positiivisiksi, jos ne olivat positiivisia virukselle vähintään kahdella kolmesta testistä. Negatiivisten näytteiden oli myös oltava negatiivisia vähintään kahdella kolmesta määrityksestä. Epäselviä näytteitä olivat näytteet, joiden kaistan signaalin voimakkuus oli RV15-testissä välillä 0-100, mutta joita ei ollut aiemmin testattu RV16- tai xTAG-testillä. Tulokset ja päätelmät: Kaikkien kolmen määrityksen yleinen herkkyys ja spesifisyys olivat samankaltaisia (∼ 85 % ja 100 %). Koska kullakin määrityksellä voidaan tunnistaa useita eri viruksia, yhden määrityksen ilmoittamat kohteet eivät aina olleet yhtäpitäviä toisen määrityksen kunkin kohteen kanssa. Osittaisten erimielisyyksien osuus oli 47 % positiivisissa näytteissä ja 21 % negatiivisissa näytteissä. Nämä odotettua suuremmat osittaisten erimielisyyksien osuudet voivat johtua kolmen multipleksimäärityksen alukkeiden tai kemian eroista.

**Tulos**

Kolmen kaupallisen multipleksimäärityksen arviointi hengitystievirusinfektioiden osoittamiseksi.

**Esimerkki 1.313**

Olemme aiemmin osoittaneet, että Nogo-A-proteiinia vastaan suunnattu immunoterapia johtaa rotilla sensorimotorisen aivokuoren aivohalvauksen jälkeen elpymiseen taitavassa eturaajojen kurottautumistehtävässä, mikä korreloi aksonaalisen ja dendriittisen plastisuuden kanssa. Tässä tutkimme Nogo-A:n vastaista immunoterapiaa toimenpiteenä, joka parantaa suorituskykyä avaruudellisessa muistitehtävässä ikääntyneillä rotilla aivohalvauksen jälkeen, ja sitä, korreloiko kognitiivinen elpyminen rakenteellisen plastisuuden kanssa. Iäkkäille rotille tehtiin yksipuolinen distaalinen pysyvä keskimmäisen aivovaltimon tukos ja viikkoa myöhemmin niille annettiin anti-Nogo-A-vasta-aine tai kontrollivasta-aine. Yhdeksän viikkoa aivohalvauksen jälkeen hoidettuja rottia ja normaaleja ikääntyneitä rottia testattiin Morrisin vesilabyrintti-tehtävässä. Testauksen jälkeen rotat teurastettiin ja aivot käsiteltiin Golgi-Cox-menetelmää varten. Hippokampuksen CA3- ja CA1-pyramidisoluista ja hammasluun granulussoluista tutkittiin dendriitin pituus ja haarasegmenttien lukumäärä, ja CA3- ja CA1-pyramidisoluista tutkittiin selkärangan tiheys ja morfologia. Anti-Nogo-A-immunoterapia, jota annettiin viikko aivohalvauksen jälkeen iäkkäille rotille, paransi suorituskykyä Morrisin vesilabyrintti-tehtävän viitemuistiosassa. Tämä suorituskyvyn paraneminen ei kuitenkaan korreloinut rakenteellisten muutosten kanssa tutkituissa hippokampuksen neuroneissa. Havaintomme, jonka mukaan suorituskyky Morrisin vesilabyrintissä parani iäkkäillä rotilla aivohalvauksen ja anti-Nogo-A-immunoterapian jälkeen, osoittaa, että anti-Nogo-A-immunoterapia tarjoaa lupaavia hoitomahdollisuuksia aivohalvauksen jälkeisten kognitiivisten puutteiden hoidossa. Aksonaalisen ja dendriittisen plastisuuden kohtien tunnistaminen ikääntyneissä aivoissa aivohalvauksen ja anti-Nogo-A-immunoterapian jälkeen on vielä tutkimuksen alla.

**Tulos**

Vastaava kirjoittaja) Tutkimuspalvelu 151 Building 1 Hines VA Hospital 5000 S. Fifth Avenue Hines, IL, USA Behav Brain Res (aivotutkimus)

**Esimerkki 1.314**

Arvioimme seerumin Aspergillus PCR -määrityksen hyödyllisyyttä invasiivisen aspergilloosin diagnosoinnissa ja ennusteessa tutkimuksessa, johon osallistui 941 potilasta ja yhteensä 5146 seeruminäytettä. Viidelläkymmenelläkympillä potilaalla oli todistettu/epäilyttävä aspergilloosi. Vertailimme keuhkonäytteiden galaktomannaani- (GM), PCR- ja mykologisia analyysejä neutropeenisilla ja ei-neutropeenisilla potilailla. Seerumista suoritettu PCR antoi 66,7 % herkkyyttä, 98,7 % spesifisyyttä, 75,6 % positiivista ennustearvoa ja 98,0 % negatiivista ennustearvoa, kun taas GM-indeksi antoi 78,4 % herkkyyttä, 87,5 % spesifisyyttä, 27 % positiivista ennustearvoa ja 98,6 % negatiivista ennustearvoa. PCR:n sisällyttäminen Euroopan syövän tutkimus- ja hoito-organisaation (EORTC) ja Mycosis Study Groupin (MSG) mykologisiin kriteereihin mahdollisti yhdeksän muun tapauksen luokittelun uudelleen mahdollisesta todennäköiseksi aspergilloosiksi ja nosti herkkyyden 71,7 prosenttiin. GM-indeksin ja seerumin PCR:n yhdistäminen lisäsi invasiivisen aspergilloosin havaitsemisastetta 88,2 prosentin herkkyydellä. PCR oli järjestelmällisesti negatiivinen 16 potilaalla, joilla oli eiinvasiivisia aspergilloosimuotoja (eli aspergilloomaa ja kroonista aspergilloosia). PCR-positiivisuuden säilyminen 14-20 päivän hoidon jälkeen oli yhteydessä huonoon lopputulokseen 30 ja 90 päivän kuluttua. Tuloksemme osoittavat myös, että toisin kuin GM-indeksin määritys, PCR:llä määritetty alkuperäinen sienikuorma ennusti hyvin 90 päivän kuolleisuutta, sillä potilaiden, joiden sienikuorma oli <150 kopiota/ml, osuus oli 15,8 % verrattuna 73,2 %:iin potilaista, joiden sienikuorma oli kyseisen raja-arvon yläpuolella tai sen yläpuolella (p <0,0001). Näin ollen PCR vaikuttaa tehokkaalta ja mielenkiintoiselta välineeltä sellaisten invasiivista aspergilloosia sairastavien potilaiden tunnistamiseksi, jotka saattaisivat hyötyä intensiivisemmästä hoidosta.

**Tulos**

Aspergillus PCR seerumissa invasiivisen aspergilloosin diagnoosia, seurantaa ja ennustetta varten neutropeenisilla ja ei-neutropeenisilla potilailla.

**Esimerkki 1.315**

Tässä luvussa tarkastellaan mikrolitografisesti valmistettujen biosirualustojen käyttöä DNA-diagnostiikassa ja -ennusteessa, mutta myös proteiini- ja RNA-biosiruja käsitellään lyhyesti. Lyhyesti käsitellään myös biologisia havaitsemismenetelmiä, kuten ioniselektiivisiä elektrodeja (ISE), mikroelektromekaanisia järjestelmiä (MEMS), kuten mikrokannattimia, optisia, pietsosähköiseen akustiseen aaltoon perustuvia laitteita ja massaspektrometriaa. Painopiste on merkkausvapaassa sähkökemiallisessa (impedimetrisessä, voltammetrisessa ja amperometrisessä) ilmaisussa. DNA:n biosirujen valmistusta korostetaan, samoin kuin geeniekspressio- ja SNP-tietojen paljastamiseen tähtäävien kokeiden toimintaa ja suunnittelua. Käsiteltyjä sovelluksia ovat mikrobien seuranta, syövän luokittelututkimukset ja potilaiden ositus lääkekehityksessä. Lopuksi käsitellään yksityiskohtaisesti diagnostisten ja ennusteellisten biosirujen kehittämisen haasteita ja kysymyksiä.

**Tulos**

DNA-diagnostiikan biosirualustat

**Esimerkki 1.316**

a b s t r a k t i o n a r t i k k e l l ä i s e n t a r v i o i n t a Tarkoitus: COVID-19 (coronavirus 2019) on kansanterveydellinen hätätilanne, joka aiheuttaa kansainvälistä huolta. Tällä hetkellä ei ole tiedossa tehokasta lääkehoitoa, vaikka sitä tarvitaan kipeästi taudin vaikeaan muotoon sairastuneille potilaille. Tämän systemaattisen katsauksen tavoitteena oli tiivistää klorokiinia koskeva näyttö COVID-19:n hoidossa. Menetelmät: PubMedistä, EMBASEsta ja kolmesta tutkimusrekisteristä etsittiin tutkimuksia klorokiinin käytöstä COVID-19-potilailla. Tulokset: Mukaan otettiin kuusi artikkelia (yksi kertova kirje, yksi in vitro -tutkimus, yksi pääkirjoitus, asiantuntijoiden konsensusasiakirja, kaksi kansallista ohjeasiakirjaa) ja 23 Kiinassa käynnissä olevaa kliinistä tutkimusta. Klorokiini näyttää rajoittavan tehokkaasti SARS-CoV-2:n (COVID-19:n aiheuttavan viruksen) lisääntymistä in vitro. Päätelmät: Klorokiinin kliininen tutkimus COVID-19-potilailla on perusteltua, koska on olemassa perusteluja, prekliinistä näyttöä tehosta ja näyttöä turvallisuudesta pitkäaikaisen kliinisen käytön perusteella muissa käyttöaiheissa. Kliinisessä käytössä olisi kuitenkin joko noudatettava rekisteröimättömien interventioiden valvottua hätäkäyttöä (MEURI) koskevaa kehystä tai se olisi eettisesti hyväksyttävä tutkimuksena, kuten Maailman terveysjärjestö on todennut. Turvallisuustietoja ja tietoja korkealaatuisista kliinisistä tutkimuksista tarvitaan kiireellisesti.

**Tulos**

Systemaattinen katsaus klorokiinin tehosta ja turvallisuudesta COVID-19:n hoidossa.

**Esimerkki 1.317**

Tausta Akuutit hengitystieinfektiot ovat yksi tärkeimmistä pienten lasten sairastuvuuden ja kuolleisuuden syistä kehitysmaissa. Tietoa ihmisen metapneumoviruksen (hMPV) ja ihmisen bocavirusinfektioiden (HBoV) esiintyvyydestä kehitysmaissa, erityisesti maaseudulla asuvien lasten keskuudessa, on hyvin vähän. Tavoitteet Tässä tutkimuksessa selvitettiin, onko näillä viruksilla yhteyttä ARTI:hin B5-vuotiaiden lasten keskuudessa Etelä-Intian maaseudulla ja kaupunkien liepeillä. Menetelmät Tutkimus oli poikkileikkaustutkimus, johon sisältyi prospektiivinen näytteenotto. Nielunäytteet kerättiin B5-vuotiailta lapsilta, joilla oli ARTI. Yhdelläkään tutkimukseen osallistuneista lapsista ei tiedetty olevan immunosuppressiivisia sairauksia. Kaksi virusta, hMPV ja HBoV, tunnistettiin käyttämällä puolinestoituja polymeraasiketjureaktiomäärityksiä (PCR) ja yksivaiheisia PCR-määrityksiä. HMPV:n ja HBoV:n havaitsemisen alaraja oli 6,69 9 10 5 plasmidikopiota ja 5,77 9 10 3 plasmidikopiota 5 litran PCR-reaktiosyötettä kohti. Tulokset Lasten hMPV-infektion esiintymistiheys oli suurempi kuin HBoV-infektion. Verrattiin hMPV:n erilaisia esiintymistiheyksiä eri ikäryhmiin kuuluvilla potilailla, joilla oli ylempien ja alempien hengitysteiden infektioita, ja todettiin, että vaihtelu oli merkityksetöntä. Niistä 38 lapsesta, jotka olivat hMPV-positiivisia, suurin osa (73,7 %) oli kotoisin maaseutuyhteisöistä. Maaseutuväestössä hMPV-positiivisten osuus oli korkeampi kuin kaupunkien esikaupunkiväestössä, mutta ero oli tilastollisesti merkityksetön. Nuorin ikä, jolloin hMPV-positiivisuus todettiin, oli 5 kuukautta. Johtopäätökset Tämä tutkimus osoitti, että hMPV oli yhteydessä merkittävään määrään (eli [10 %]) eteläintialaisilla lapsilla esiintyviä arti-infektioita, kun taas HBoV-infektioita havaittiin suhteellisen vähän.

**Tulos**

Ihmisen metapneumoviruksen ja ihmisen bocaviruksen molekulaarinen osoittaminen nielurisojen pyyhkäisynäytteistä, jotka on kerätty pieniltä lapsilta, joilla on akuutti hengitystieinfektio Etelä-Intian maaseutuyhteisöistä ja kaupunkien lähiyhteisöistä.

**Esimerkki 1.318**

On kulunut yli kolme vuosikymmentä siitä, kun Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto (FDA) hyväksyi ensimmäisen monoklonaalisen vasta-aineen vuonna 1986, ja tänä aikana vasta-ainetekniikka on kehittynyt dramaattisesti. Nykyisillä vasta-ainelääkkeillä on yhä vähemmän haittavaikutuksia niiden korkean spesifisyyden ansiosta. Tämän seurauksena terapeuttisista vasta-aineista on tullut viime vuosina kehitettyjen uusien lääkkeiden pääasiallinen luokka. Viimeisten viiden vuoden aikana vasta-aineista on tullut lääkemarkkinoiden myydyimpiä lääkkeitä, ja vuonna 2018 kahdeksan maailman kymmenen myydyimmän lääkkeen joukossa oli biologisia lääkkeitä. Maailmanlaajuisten terapeuttisten monoklonaalisten vasta-ainemarkkinoiden arvo oli noin 115,2 miljardia dollaria vuonna 2018, ja niiden odotetaan tuottavan 150 miljardin dollarin liikevaihdon vuoden 2019 loppuun mennessä ja 300 miljardin dollarin liikevaihdon vuoteen 2025 mennessä. Terapeuttisten vasta-ainelääkkeiden markkinat ovat siis kokeneet räjähdysmäisen kasvun, kun uusia lääkkeitä on hyväksytty ihmisten eri sairauksien, kuten monien syöpä-, autoimmuuni-, aineenvaihdunta- ja tartuntatautien, hoitoon. Joulukuuhun 2019 mennessä Yhdysvaltain FDA on hyväksynyt 79 terapeuttista mAb-lääkettä, mutta kasvupotentiaalia on edelleen merkittävästi. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto markkinoiden viimeisimmistä suuntauksista ja hahmotellaan terapeuttisten vasta-ainelääkkeiden kehittämisessä käytettyjä merkittävimpiä vasta-ainetekniikoita, kuten monoklonaalisten vasta-aineiden humanisointi, faaginäyttö, ihmisen vasta-ainehiiri, yhden B-solun vasta-ainetekniikka ja affiniteettikypsytys. Lopuksi käsitellään myös tulevia sovelluksia ja näkymiä.

**Tulos**

Terapeuttisten vasta-aineiden kehittäminen sairauksien hoitoa varten

**Esimerkki 1.319**

Uuden maailman verenvuotokuumeen arenavirukset ovat jyrsijöiden levittämiä taudinaiheuttajia, jotka aiheuttavat vakavia tauteja ihmisille. Pintaglykoproteiinin (GP) GP1-alayksikkö välittää soluun kiinnittymistä transferriinireseptori 1:n (TfR1) kautta. Raportoimme Machupo-viruksen (MACV) GP1:n rakenteen sitoutuneena ihmisen TfR1:een. GP1:TfR1-rajapinnan atomiset yksityiskohdat selventävät NW-arenaviruksen isäntäspesifisyyteen vaikuttavien TfR1:n jäännösten merkitystä. NW-arenavirusten GP1:n ja niiden isäntälajireseptorien sekvenssivaihtelun analyysi molekyylirakenteen valossa osoittaa viruksen zoonoottisen siirtymisen määrittäjiä. Pseudovirusten infektiivisyys mutaatiota TfR1:tä ilmentävissä soluissa vahvistaa, että TfR1:n apikaalisen domeenin kärjessä olevat kontaktit määräävät ihmisen TfR1:n kyvyn välittää tiettyjen NW-arenavirusten infektioita. Ehdotamme, että ihmiselle patogeeniset NW-arenavirukset ovat sattumalta hankkineet affiniteetin ihmisen TfR1:een sopeutuessaan luonnollisten isäntiensä TfR1:een.

**Tulos**

Uuden maailman verenvuotokuumeen arenavirusten reseptorin tunnistamisen rakenteellinen perusta Hakemistokoodit MACV GP1:n rakenteen koordinaatit on talletettu Protein Data Bankiin hakemistokoodilla 3KAS. HHS Public Access Tekijän käsikirjoitus

**Esimerkki 1.320**

Alkuperäisen yhdysvaltalaisen PEDV-kannan PC22A viruspoolin tarttuva annos määritettiin 4 päivän ikäisillä, keisarinleikkauksella syntyneillä, ternimaitoa vailla olevilla (CDCD) porsailla. Viruspoolin sian ripuliannoksen mediaani (PDD 50 ) määritettiin 7,35 log 10 PDD 50 /m3, joka oli samanlainen kuin soluviljelmien infektiotitteri, 7,75 log 10 plakkia muodostavaa yksikköä (PFU) /m3. 100 PDD 50 aiheutti vetistä ripulia kaikissa tavanomaisissa imettävissä porsaissa (n = 12), jotka olivat peräisin PEDV-virukselle altistumattomasta emakosta, kun taas 1000 ja 10 000 PDD 50 eivät aiheuttaneet ripulia porsaissa, jotka olivat peräisin kahdesta PEDV:lle altistuneesta, PEDV:lle palautuneesta emakosta. Nämä tiedot ovat tärkeitä tulevia PEDV-haastetutkimuksia ja PEDV-rokotteiden validointia varten.

**Tulos**

Alkuperäisen yhdysvaltalaisen sikojen epidemiallisen ripuliviruksen PC22A-kannan tartuntatiitterin ja virulenssin määrittäminen Yhdysvalloissa.

**Esimerkki 1.321**

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli arvioida kvaternaarisen ammoniumkloridin (QAC) pinta-aktiivisen aineen tehokkuutta pintakontaminaation vähentämisessä rutiininomaisesti toimivalla lääketieteellisellä osastolla, jossa asui potilaita, joiden metisilliinille resistentin Staphylococcus aureuksen (MRSA) positiivinen testi oli osoittanut. Testattava QAC on antibakteerinen kalvo, joka ruiskutetaan pinnalle ja joka voi pysyä aktiivisena jopa 8 tuntia. Kenttäkokeellinen tutkimus suunniteltiin siten, että QAC ja päivittäinen hypokloriittipuhdistus olivat koeryhmä ja pelkkä hypokloriittipuhdistus oli kontrolliryhmä. Näytteenottoon käytettiin kostutetuilta pinnoilta pyyhkäisymenetelmää. Todettiin, että 83 prosenttia MRSA-positiivisten potilaiden ja 77 prosenttia MRSA-negatiivisten potilaiden vuodeosastojen pinnoista oli kontaminoitunut stafylokokkeilla kello 08.00 ja että stafylokokkipitoisuudet kasvoivat 80 prosenttia kello 12.00 neljän tunnin ajanjakson aikana, jolloin osastolla oli rutiininomaista ja kliinistä toimintaa. Riippumatta potilaiden MRSA-statuksesta, tutkittavan sairaalan vuodeosastojen ympärillä olevat kosketuspinnat olivat voimakkaasti kontaminoituneita (vaihteluväli oli 1-276 cfu/cm 2 niiden kohteiden välillä, joissa oli OPEN ACCESS Int. J. Environ. Res. Public Health 2015, 12 3027 positiivinen viljely) stafylokokkibakteereilla, mukaan lukien MRSA, huolimatta päivittäisestä hypokloriittipyyhinnästä. Kontaminaatioaste kuitenkin laski merkittävästi 78 prosentista 11 prosenttiin QAC-polymeerin käytön jälkeen. QAC-polymeerin käyttö vähensi merkitsevästi (p < 0,0001) vuodeosastojen pintojen keskimääräistä stafylokokkipitoisuutta, joka oli 4,4 ± 8,7 cfu/cm 2 klo 08:00 0,07 ± 0,26 cfu/cm 2 klo 12:00. Kokeellisessa ryhmässä QAC-polymeerin käyttö vähensi merkittävästi (p < 0,0001) stafylokokkipitoisuutta. Tämän tutkimuksen tulokset tukevat näkemystä, jonka mukaan testattu QAC-pinta-aktiivinen aine on hypokloriittipyyhinnän lisäksi potentiaalinen ympäristön dekontaminointistrategia kliinisesti tärkeiden patogeenien leviämisen estämiseksi sairaalahoito-osastoilla.

**Tulos**

Metisilliinille resistentin Staphylococcus aureus -bakteerin (MRSA) aiheuttama kontaminaatio sairaalaosaston vuodeosaston pinnoilla ja mikrobilääkkeellä tehostetun desinfektion mahdollinen tehokkuus.

**Esimerkki 1.322**

Lintujen tarttuva keuhkoputkentulehdusvirus (IBV) on koronavirus, joka tarttuu kaikenikäisiin kanoihin (Gallus gallus) ja aiheuttaa merkittäviä taloudellisia tappioita siipikarjateollisuudelle maailmanlaajuisesti. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on analysoida nefropatogeenisten IBV:iden patogeenisyyteen liittyviä miRNA:ita. Tutkimuksessa havaittiin, että neljä miRNA:ta (miR-1454, miR-3538, miR-146a-5p ja miR-215-5p) liittyi virulentin nefropatogeenisen IBV:n infektioon, kun transkriptiomäärä miljoonaa kohti (TPM) oli > 500 ja muutos yli 2-kertainen. In vitro -tutkimustulokset osoittivat, että näiden neljän miRNA:n muutokset olivat yhdenmukaisia in vivo -tietojen kanssa. In vitro havaitsimme, että korkeat miR-146a-5p-tasot voisivat lisätä IBV:n replikaatiota infektion alkuvaiheessa, ja sen alas säädelty taso voisi hidastaa IBV:n replikaatiota. Lopuksi eksogeenisen miR-146a-5p:n korkeat tasot HD11-soluissa johtivat IL-1-reseptoriin assosioituneen kinaasi-2:n (IRAK2) ja tuumorinekroositekijän reseptorin superperheen jäsen 18:n (TNFRSF18) geenien alas säätelyyn. Luciferaasireportterimääritykset osoittivat, että miR-146a-5p voi sitoutua IRAK2:n ja TNFRSF18:n 3′-UTR:iin. Tämä on ensimmäinen tutkimus, joka osoittaa, että IBV:n indusoima miR-146a-5p liittyy viruksen patogeneesiin säätelemällä IRAK2- ja TNFRSF18-geenejä alaspäin, mikä voi toimia terapeuttisena strategiana IBV-infektioiden ehkäisemiseksi. \* Vastaava kirjoittaja. Puh./fax: +86 028 8547 1599.

**Tulos**

miR-146a-5p edistää tarttuvan keuhkoputkentulehdusviruksen replikaatiota kohdistamalla IRAK2:een ja TNFRSF18:aan.

**Esimerkki 1.323**

Naisen limakalvojen sukupuolielinten synnynnäiseen puolustusjärjestelmään kuuluu tiivis ja monimutkainen vuorovaikutus terveen emättimen mikrobiston, eri solujen ja erilaisten proteiinien välillä, jotka suojaavat isäntää taudinaiheuttajilta. Emättimen laktobasillit ja laktoferriini edustavat kahta keskeistä toimijaa emätinympäristössä. Laktobasillit edustavat hallitsevia bakteerilajeja, jotka kykenevät estämään fakultatiivisten ja obligaattisten anaerobien ylimäärän emättimen mikrobistossa ylläpitämällä tervettä mikrobien homeostaasia. Laktobasillien antaman suojan taustalla on useita mekanismeja: kilpailu ravintoaineista ja kudoksiin kiinnittymisestä, emättimen pH:n alentaminen, immuniteetin modulointi ja bioaktiivisten yhdisteiden tuotanto. Kohdunkaulan ja emättimen limakalvon bioaktiivisista tekijöistä laktoferriini, rautaa sitova kationinen glykoproteiini, on monikäyttöinen glykoproteiini, jolla on antibakteerisia, sieni-, virus- ja loislääkkeitä sekä parasiitteja ehkäiseviä vaikutuksia ja joka on viime aikoina noussut esiin merkittävänä tulehduksen säätelijänä. Laktobasillit ja laktoferriini ovat suurelta osin naishormonien ja erilaisten sytokiinien parakriinisen tuotannon vaikutuksen alaisia. Laktoferriini lisääntyy voimakkaasti Neisseria gonorrheae-, Chlamydia trachomatis- ja Trichomonas vaginalis -infektioista kärsivien naisten alempien sukuelinten limakalvon nesteessä, mikä edistää sekä synnynnäisiä että adaptiivisia immuunivasteet. Emättimen dysbioosissa, jolle on ominaista emättimen laktobasillien vähäinen määrä ja endogeenisten anaerobisten bakteerien lisääntynyt määrä, laktoferriinin lisääntyminen voisi toimia immuunimodulaattorina, joka ottaisi hoitaakseen roolin, joka normaalisti kuuluu emättimen limakalvon terveelle mikrobistolle. Näin ollen laktoferriiniä ja laktobasilleja voidaan pitää emättimen muuttuneen mikrobiologisen homeostaasin biomarkkereina. Kun otetaan huomioon, että toistuvien ja/tai antibiooteille vastustuskykyisten bakteeri-infektioiden torjumiseksi ei ole olemassa tehokkaita hoitoja, laktobasillien ja laktoferriinin antaminen emättimen sisäisesti voisi olla uusi tehokas hoitostrategia ja arvokas väline limakalvon immuunijärjestelmän homeostaasin palauttamiseksi.

**Tulos**

Laktobasillien ja laktoferriinin rooli kohdunkaulan limakalvojen puolustuksessa

**Esimerkki 1.324**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) koronaviruksen 3C:n kaltaisen proteinaasin on osoitettu olevan keskeinen kohde SARSin vastaisten lääkkeiden suunnittelussa. SARS-koronaviruksen 3C-kaltaisen (3CL) proteinaasin ja oktapeptidiliitännäisen inhibiittorin välistä vuorovaikutusta tutkittiin affiniteettikapillaarielektroforeesilla (ACE). Sitoutumisvakioita arvioitiin muuttamalla analyyttien migraatioaikaa puskuriliuoksessa, joka sisälsi eri pitoisuuksia SARS 3CL -proteinaasia. Tulokset osoittivat, että SARS 3CL -proteinaasi pystyi kompleksoitumaan oktapeptidin kanssa kilpailevasti, ja sitoutumisvakio oli 2,44 - 10 4 M À1 20 °C:ssa ja 2,11 - 10 4 M À1 37 °C:ssa. Lisäksi johdetut termodynaamiset parametrit osoittavat, että hydrofobisella vuorovaikutuksella saattaa olla sähköstaattisen voiman ohella merkittävä rooli sitoutumisprosessissa. Tässä käytettyä ACE-menetelmää voitaisiin kehittää tehokkaaksi ja yksinkertaiseksi tavaksi soveltaa laajamittaista lääkkeiden seulontaa ja arviointia.

**Tulos**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen 3C:n kaltaisen proteinaasin ja dimeerisen inhibiittorin välinen vuorovaikutus kapillaarielektroforeesin avulla

**Esimerkki 1.325**

RNA-virukset koodaavat RNA-riippuvaista RNA-polymeraasia (RdRp), joka katalysoi niiden RNA:n synteesiä. Nidovirales-järjestöön kuuluvien positiivisjuosteisten RNA-virusten tapauksessa RdRp sijaitsee replikaasin alayksikössä, joka on epätavallisen suuri. Tämän ei-rakenteellisen proteiinin bioinformatiikan analyysi on nyt paljastanut nidovirusten tunnusdomeenin (geneettinen merkkiaine), joka on N-terminaalisesti RdRp:n vieressä ja jolla ei ole ilmeisiä homologeja muualla. Säilyvyysprofiilinsa perusteella tällä domeenilla ehdotetaan olevan nukleotidylaatioaktiivisuutta. Käytimme rekombinanttia arteriviruksen equine arteritisviruksen (EAV) ei-rakenteellista proteiinia 9 ja erilaisia biokemiallisia testejä, mukaan lukien irreversiibeli leimaaminen GTP-analogilla, jota seurasi proteomiikka-analyysi, osoittaaksemme guanosiini- ja uridiinifosfaattien mangaanista riippuvaisen kovalenttisen sitoutumisen lysiini/histidiinijäännökseen. Todennäköisesti kyseessä oli uuden tunnistetun, nidoviruksen RdRpass-assosioituneeksi nukleotidyylitransferaasiksi (NiRAN) nimetyn domeenin invariantti lysiini, jonka korvaaminen alaniinilla vähensi huomattavasti kuvattua sitoutumista. Lisäksi tämä mutaatio rampautti EAV:n ja esti vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (SARS-CoV) lisääntymisen soluviljelmissä, mikä osoittaa, että NiRAN on välttämätön nidoviruksille. NiRANin tukemia mahdollisia toimintoja voivat olla muun muassa nukleiinihappojen ligointi, mRNA:n peittäminen ja proteiineilla käynnistetty RNA-synteesi, ja näitä mahdollisuuksia on vielä tutkittava tulevissa tutkimuksissa.

**Tulos**

Kaikkien nidovirusten RNA-polymeraasia sisältävän proteiinin hiljattain määritettyyn konservoituneeseen domeeniin liittyvän välttämättömän nukleotidylointiaktiivisuuden löytyminen.

**Esimerkki 1.326**

Tämän ajankohtaisen katsauksen lähestymistavassa tarkastellaan nykyistä kirjallisuutta, jossa keskitytään rajapinnan nanorakenteen ja soluseinän mikro-organismin väliseen annihilaatiomekanismin ymmärtämiseen. Morfologisissa tutkimuksissa käytetään optisia ja elektronisia mikroskooppeja soluseinän fyysisten vaurioiden ja mahdollisen solujen lyysauksen määrittämiseksi, mikä vahvistaa elinkelpoisuuden ja mikro-organismin kuoleman. Valoaktiivisten nanorakenteiden pinnan räätälöinnin keskeiset parametrit, kuten metallin funktionalisointi bakteriostaattisilla ominaisuuksilla, hydrofiilisyys, tekstuurihuokoisuus, morfologia ja heterojunktion järjestelmien muodostaminen, voivat saavuttaa mikro-organismien tehokkaan hävittämisen luonnollisissa olosuhteissa, jotka vaihtelevat käytännön sovelluksista ympäristöön, maatalouteen ja niin edelleen. Tietojemme mukaan mikro-organismin ja nanomateriaalin rajapinnan lähestymistapaa on kuitenkin harvoin tarkasteltu kattavasti. Loppuhuomautuksissa osoitetaan ihanteellinen fotokatalyyttinen tapa mikro-organismien tehokkaaseen ehkäisyyn / hävittämiseen, kun otetaan huomioon resistenssi, jonka mikro-organismi voisi kehittää ilman asianmukaisia sääntelynäkökohtia ihmisten ja ekosysteemin turvallisuuden kannalta.

**Tulos**

Lähestymistapa fotokatalyyttiseen mekanismiin TiO 2 -nanomateriaalien mikro-organismien rajapinnassa infektioprosessien hallitsemiseksi Avainsanat: Patogeeniset mikro-organismit Valotappaminen Mikro-organismin ja nanomateriaalien rajapinta TiO 2 -pohjaiset materiaalit Annihilaatio Hengitystievirus Pandemia

**Esimerkki 1.327**

Olemme raportoineet aristeromysiinistä (1) ja 6 0 -fluoratuista aristeromysiinianalogeista (2), jotka ovat aktiivisia RNA-viruksia, kuten Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronavirusta (MERS-CoV), vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän koronavirusta (SARS-CoV), zikavirusta (ZIKV) ja chikungunya-virusta (CHIKV) vastaan. Näillä on kuitenkin huomattava sytotoksisuus. Koska tämä sytotoksisuus voi johtua 5 0 -fosforylaatiosta, suunnittelimme ja syntetisoimme yhden hiilen homologisia 6 0 -fluorattuja aristeromysiinianalogeja. Tämä modifikaatio estää 5 0 -fosforylaation solukinaasien toimesta, kun taas inhiboiva aktiivisuus S-adenosyyli-L-homokysteiinihydrolaasia (SAH) kohtaan säilyy. Enantiomeerisesti puhtaat 6 0 -fluoratut 5 0 -homoaristeromysiinianalogit 3a-e syntetisoitiin silyylienolieetterin elektrofiilisellä fluoroinnilla Selectfluorilla käyttäen avainvaiheina emäksen rakentamista. Kaikki syntetisoidut yhdisteet osoittivat voimakasta inhiboivaa aktiivisuutta SAH-hydrolaasia kohtaan, joista 6 0 -b-fluoroadenosiinianalogi 3a oli voimakkain (IC 50 ¼ 0,36 mM). Testatuista yhdisteistä 6 0 -b-fluoro-homoaristeromysiini 3a osoitti voimakasta antiviraalista aktiivisuutta (EC 50 ¼ 0,12 mM) CHIKV:tä vastaan ilman havaittavaa sytotoksisuutta 250 mM:iin asti. Ainoastaan 3a:lla oli CHIKV:n vastaista aktiivisuutta, kun taas sekä 3a että 3b estivät SAH-hydrolaasia samanlaisilla IC 50 -arvoilla (0,36 ja 0,37 mM), mikä viittaa siihen, että 3a:n viruslääkkeiden antiviraalinen aktiivisuus ei ollut riippuvainen pelkästään SAH-hydrolaasin estämisestä. Tätä tukee myös se, että antiviraalinen vaikutus oli spesifinen CHIKV:lle ja joillekin muille alfaviruksille eikä yksikään homologisista analogeista estänyt muita RNA-viruksia, kuten SARS-CoV:tä, MERS-CoV:tä ja ZIKV:tä. Voimakas inhibitio ja korkea selektiivisyysindeksi tekevät 6 0 -b-fluoro-homoaristeromysiinistä (3a) lupaavan uuden mallin viruslääkkeiden kehittämiseksi CHIKV:tä vastaan, joka on vakava uudelleen esiintyvä taudinaiheuttaja, joka on tartuttanut miljoonia ihmisiä viimeisten 15 vuoden aikana.

**Tulos**

6 0 -b-fluoro-homoaristeromysiinin tunnistaminen chikungunya-viruksen replikaation voimakkaaksi estäjäksi.

**Esimerkki 1.328**

Vakavan akuutin hengitystieoireyhtymän (SARS) epidemia vuonna 2003 toi esiin sekä lyhyen että pitkän matkan tartuntareitit eli tartunnan saaneiden potilaiden ja terveydenhuoltohenkilöstön väliset sekä kaukana sijaitsevien paikkojen väliset tartuntareitit. Muiden infektioiden, kuten tuberkuloosin, tuhkarokon ja vesirokon, kohdalla aerosolien aiheuttama tartunta on hyväksytty niin hyvin, että tällaisten potilaiden eristäminen on normaalia. Kun nykyisin ollaan huolissaan mahdollisesta lähestyvästä influenssapandemiasta, tartuntailman välityksellä tapahtuvan tartunnan leviämisen valvonta on tullut entistä tärkeämmäksi. Tämän vuoksi tämän katsauksen tavoitteena on kuvata tekijöitä, jotka liittyvät: (1) tartuntavaarallisen aerosolin syntyyn, (2) tartuntavaarallisten pisaroiden tai pisaraydinten siirtymiseen tästä aerosolista ja (3) mahdollisuuteen, että altis isäntä hengittää tällaisia pisaroita tai pisaraydimiä. Tältä pohjalta annetaan suosituksia aerosolin välityksellä tarttuvien infektioiden valvonnan parantamiseksi sairaaloissa sekä tulevien eristystilojen suunnittelussa ja rakentamisessa.

**Tulos**

Infektioiden aerosolisaatioon ja ilmanvaihdon valvontaan terveydenhuollon tiloissa liittyvät tekijät

**Esimerkki 1.329**

Ympäristötekijöiden, kuten virusinfektion, on arveltu olevan yksi multippeliskleroosin neuroinflammation laukaisevista tekijöistä. Tässä tutkimuksessa korostetaan kaksisäikeisen RNA:n (dsRNA), virusinfektion aktiivisen komponentin, merkitystä indusoituvan typpioksidisyntaasin (iNOS) ilmentymisen indusoimisessa ihmisen astroglioissa. Synteettisen polyinosiinipolysytidyylihapon (poly IC) muodossa oleva dsRNA indusoi iNOS:n ilmentymistä ja iNOS:n promoottorista johtuvaa luciferaasiaktiivisuutta ydintekijä (NF)-κB:n ja CCAAT/enancer-binding proteinβ:n (C/EBPβ) aktivoitumisen kautta. Lisäksi osoitamme, että proteiinikinaasi R:n estäjät heikensivät iNOS:ää tukahduttamalla NF-κB:n mutta ei C/EBPβ:n aktivaatiota. Sitä vastoin p38 mitogeeniaktivoidun proteiinikinaasin (MAPK) tyrmäys vaimensi iNOS:ää tukahduttamalla C/EBPβ:n mutta ei NF-κB:n aktivoitumista. Tässä tutkimuksessa hahmotellaan dsRNA:n uutta roolia iNOS:n ilmentymisen indusoimisessa dsRNA:n aktivoiman proteiinikinaasin (PKR) välittämän NF-κB:n aktivaation ja p38:n välittämän C/EBPβ:n aktivaation kautta ihmisen astroglioissa, jotka voivat osallistua viruksen aiheuttamiin neurologisiin poikkeavuuksiin.

**Tulos**

Proteiinikinaasi R:n rooli typpioksidisyntaasin kaksoisjuosteisen RNA:n indusoimassa ilmentymisessä ihmisen astroglioissa.

**Esimerkki 1.330**

Kasvien molekyylifarming on osoittautunut luotettavaksi alustaksi rekombinanttiproteiinien ilmentämiselle, joka on turvallinen ja edullinen vaihtoehto bakteeri- ja nisäkässoluihin perustuville järjestelmille. Samanaikaisesti kasvivirukset ovat kehittyneet patogeeneistä molekulaarisiksi välineiksi, joita käytetään rekombinanttiproteiinien ilmentämisessä, kimeeristen virusrokotteiden tuotannossa ja viime aikoina myös lääkkeiden nanoagenteina. Tässä katsauksessa esitetään yhteenveto virusvektoreiden synnystä ja agroinfektiosta, kuorettomien virusten kehittämisestä erilaisiin bioteknologisiin sovelluksiin sekä kuorellisia kasviviruksia koskevasta meneillään olevasta tutkimuksesta.

**Tulos**

Kasvivirukset kasvien molekulaarisessa lääkehoidossa: Toward the Use of Enveloped Viruses: Toward the Use of Enveloped Viruses.

**Esimerkki 1.331**

Taustaa Vakavaan akuuttiin hengitysteiden koronavirukseen 2 (SARS-CoV-2) liittyvä keuhkokuumeen puhkeaminen alkoi joulukuussa 2019 Wuhanissa, Kiinassa. Tietoja SARS-CoV-2-infektiota sairastavista kriittisesti sairaista potilaista on niukasti. Tavoitteenamme oli kuvata SARS-CoV-2-pneumoniaa sairastavien kriittisesti sairaiden potilaiden kliininen kulku ja tulokset. Menetelmät Tässä yksikeskuksisessa, retrospektiivisessä, havainnointitutkimuksessa otimme mukaan 52 kriittisesti sairasta aikuispotilasta, joilla oli SARS-CoV-2-pneumonia ja jotka otettiin Wuhan Jin Yin-tan -sairaalan (Wuhan, Kiina) teho-osastolle (ICU) joulukuun lopun 2019 ja tammikuun 26. päivän 2020 välillä. Demografiset tiedot, oireet, laboratorioarvot, liitännäissairaudet, hoidot ja kliiniset tulokset kerättiin. Tietoja verrattiin eloonjääneiden ja ei-eloonjääneiden välillä. Ensisijainen lopputulos oli 28 päivän kuolleisuus 9. helmikuuta 2020. Toissijaisia tuloksia olivat SARS-CoV-2:een liittyvän akuutin hengitysvaikeusoireyhtymän (ARDS) ilmaantuvuus ja mekaanista ventilaatiota tarvitsevien potilaiden osuus. Tulokset Mukaan otettiin 710 SARS-CoV-2-pneumoniaa sairastavasta potilaasta 52 kriittisesti sairasta aikuispotilasta. 52 potilaan keski-ikä oli 59-7 (SD 13-3) vuotta, 35 (67 %) oli miehiä, 21 (40 %) oli kroonisesti sairaita, 51 (98 %) oli kuumeisia. vs. 9 [45 %] potilasta), ja he saivat todennäköisemmin mekaanista hengityskonehoitoa (30 [94 %] potilasta vs. 7 [35 %] potilasta) joko invasiivisesti tai noninvasiivisesti. Useimmilla potilailla oli elintoimintojen vaurioita, joista 35:llä (67 %) oli ARDS, 15:llä (29 %) akuutti munuaisvaurio, 12:lla (23 %) sydänvaurio, 15:llä (29 %) maksan toimintahäiriö ja yhdellä (2 %) pneumothorax. Mekaanista hengityskonehoitoa tarvitsi 37 (71 %) potilasta. Sairaalainfektioita esiintyi seitsemällä (13-5 %) potilaalla. Tulkinta SARS-CoV-2 -keuhkokuumeeseen sairastuneiden kriittisesti sairaiden potilaiden kuolleisuus on huomattava. Ei-eloonjääneiden selviytymisaika on todennäköisesti 1-2 viikkoa teho-osastolle pääsyn jälkeen. Iäkkäillä potilailla (>65-vuotiaat), joilla on liitännäissairauksia ja ARDS, on suurentunut kuoleman riski. SARS-CoV-2 -keuhkokuumeen vaikeusaste aiheuttaa suurta rasitusta sairaaloiden tehohoitoresursseille, varsinkin jos niissä ei ole riittävästi henkilökuntaa tai resursseja. Rahoitus Ei ole.

**Tulos**

Artikkelit SARS-CoV-2 -keuhkokuumetta sairastavien kriittisesti sairaiden potilaiden kliininen kulku ja tulokset Wuhanissa, Kiinassa: yksi keskitetty, retrospektiivinen, havainnointitutkimus.

**Esimerkki 1.332**

Konservoitunut 11 nukleotidin sekvenssi, UGAAUGAAGUU, coronavirus hiiren hepatiittiviruksen genomisen RNA:n 3-päässä oli välttämätön isäntäproteiinin sitoutumiselle ja viruksen RNA-synteesille. Tätä 11-nukleotidisekvenssiä sisältävä RNA-koetin sitoi neljä soluproteiinia, joista vahvasti leimattu proteiini oli 120 kDa ja kolme pienempää lajia, joiden koot olivat 103, 81 ja 55 kDa. 11-nukleotidin motiivin mutaatio poisti soluproteiinien sitoutumisen. RNA-proteiinikompleksit, joita havaittiin MHV-JHM-infektoitujen solujen sytoplasmauutteilla sekä RNaasisuojaus-/geeliliikkuvuussiirtymä- että UV-ristikytkentämäärityksissä, eivät eronneet infektoimattomien solujen uutteilla havaituista. Mutaatiot, jotka häiritsivät RNA-proteiinikompleksin muodostumista, vaikuttivat sekä negatiivisen säikeen synteesiin että positiivisen säikeen replikaatioon viruksen viallisilla häiritsevillä RNA:illa auttajaviruksen läsnäollessa, vaikka 11 mutatoitunutta nukleotidia muunnettiin villin tyypin sekvenssiksi oletettavasti rekombinaation avulla auttajaviruksen kanssa. Kineettinen analyysi osoitti, että DI-RNA:n ja apuviruksen välinen rekombinaatio tapahtui suhteellisen varhaisessa vaiheessa MHV:n replikaatiosykliä 5,5-7,5 tuntia tartunnan jälkeen, jolloin viruksen RNA-synteesi ja positiivisjuosteisen DI-RNA:n replikaatio olivat tuskin havaittavissa. DI-RNA, jossa oli mutaatio proteiinia sitovan elementin yläjuoksulla, replikoitui yhtä tehokkaasti kuin villityyppi ilman rekombinaatiota. Näin ollen 11-nukleotidin konservoituneella isäntäproteiinin sitoutumismotiivilla näyttää olevan tärkeä rooli viruksen RNA:n replikaatiossa. ᭧

**Tulos**

Konservoitunut motiivi hiiren hepatiittiviruksen genomisen RNA:n 3-päässä, joka on välttämätön isäntäproteiinin sitoutumiselle ja viruksen RNA:n replikaatiolle.

**Esimerkki 1.333**

Taustaa: Vaikka tiedetään, että akuutin hengitystiesairauden (ARI) aiheuttavat useat virukset, vähemmän tiedetään samanaikaisista tartunnoista ja niistä johtuvista vertailevista oireista ja sairausrasituksesta. Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin ARI:hen liittyviä yhteistartuntoja, virusten jakautumista, oireita ja sairausrasitusta joulukuun 2012 ja maaliskuun 2013 välisenä aikana. Menetelmät: ARI-tautia sairastavilta avohoitopotilailta tutkittiin 18 viruksen esiintyminen käyttämällä multiplex-käänteistranskriptaasipolymeraasiketjureaktiota (MRT-PCR) useiden virusten samanaikaisen havaitsemisen mahdollistamiseksi. Tulokset: 935 potilaasta 60 prosenttia oli positiivisia yhden viruksen suhteen, 9 prosenttia oli positiivisia ≥1 viruksen suhteen ja 287 potilasta (31 prosenttia) oli negatiivisia. Lapsista (<18-vuotiaista) vastaavat jakaumat olivat 63 %, 14 % ja 23 %, kun taas nuoremmista aikuisista (18-49-vuotiaista) jakaumat olivat 58 %, 8 % ja 34 % ja vanhemmista aikuisista (≥50-vuotiaista) jakaumat olivat 61 %, 5 % ja 32 % (P < 0,001). Samanaikaiset löydökset olivat yleisempiä lapsilla kuin vanhemmilla aikuisilla (P = 0,01) ja harvinaisempia lapsettomissa kotitalouksissa (P = 0,003). Yleisimmät yhdessä havaitut virukset olivat koronavirus, hengitystieoireyhtymävirus ja influenssa A -virus. Yksittäisiin virusinfektioihin verrattuna ne, joilla oli todettu samanaikaisesti, ilmoittivat harvemmin kurkkukivusta (P = 0,01), olivat vähemmän poissa koulusta (1,1 vs. 2 päivää; P = 0,04) tai töistä (2 vs. 3 päivää; P = 0,03); muut sairauden vakavuuden mittarit eivät vaihdelleet. Päätelmät: ARI:n sairastaneiden avohoitopotilaiden keskuudessa 69 %:lla käynneistä oli virusperäinen etiologia. Erityisten virusklusterien yhteistartuntoja havaittiin 9 prosentissa ARI-tapauksista erityisesti lapsilla, niitä esiintyi harvemmin lapsettomissa kotitalouksissa ja ne olivat vähemmän oireellisia (esim. kuume oli alhaisempi) kuin yksittäiset infektiot.

**Tulos**

influenssakausi

**Esimerkki 1.334**

Taustaa. Huhtikuussa 2012 Jordanian terveysministeriö tutki alempien hengitysteiden sairauksien puhkeamista eräässä jordanialaisessa sairaalassa. Kaksi kuolemaan johtanutta tapausta vahvistettiin taannehtivasti reaaliaikaisella käänteistranskriptiopolymeraasiketjureaktiolla (rRT-PCR) ensimmäisiksi todetuiksi Lähi-idän hengitystieoireyhtymän (MERS-CoV) tapauksiksi. Menetelmät. Valittujen mahdollisten tapausten epidemiologiset ja kliiniset ominaisuudet arvioitiin seerumin verinäytteiden, sairauskertomusten tarkastelun ja taudinpurkauksesta eloonjääneiden jäsenten, kotitalouden kontaktien ja terveydenhuoltohenkilöstön haastattelujen avulla. MERS-CoV-infektiotapaukset tunnistettiin käyttämällä kolmea serologista testiä, joilla Yhdysvaltain tautienvalvontakeskus (US Centers for Disease Control and Prevention) osoitti MERS-CoV-vasta-aineet. Tulokset. Näytteitä ja haastatteluja saatiin 124 henkilöltä. Seitsemän aiemmin vahvistamatonta henkilöä testattiin positiivisiksi anti-MERS-CoV-vasta-aineiden suhteen vähintään kahdella kolmesta serologisesta testistä, minkä lisäksi rRT-PCR:llä tunnistettiin kaksi kuolemaan johtanutta tapausta. Kuolemantapausten osuus kaikista yhdeksästä tapauksesta oli 22 prosenttia. Kuusi tutkittavaa oli tartuntasairaalan terveydenhuoltohenkilöstöä, joten tartuntatapausten osuus tartunnalle mahdollisesti altistuneesta tartuntasairaalan henkilökunnasta oli 10 prosenttia. MERS-CoV:n tarttumisesta ei ollut näyttöä kahdessa siirtosairaalassa, joissa oli hyväksyttävät infektioiden valvontakäytännöt. Päätelmät. Uudet serologiset testit mahdollistivat muutoin tunnistamattomien MERS-CoV-infektiotapausten havaitsemisen kontaktien keskuudessa Jordanian sairaalassa huhtikuussa 2012 puhjenneessa hengitystiesairauden taudinpurkauksessa, ja tuloksena oli yhteensä 9 testipositiivista tapausta. Serologiset tulokset viittaavat siihen, että taudinpurkaus ei levinnyt edelleen siirtosairaaloihin. Useimmilla tutkittavilla ei ollut merkittäviä perussairauksia, eikä yksikään hemodialyysipotilas ollut hemodialyysissä. Havaittu kuolleisuus oli alhaisempi kuin muualla raportoitujen taudinpurkausten yhteydessä.

**Tulos**

Itäisen Välimeren kansanterveysverkosto ja 6 kenttäepidemiologian koulutusohjelma.

**Esimerkki 1.335**

Taustaa. Terveydenhuollossa henkilökohtaisten suojavarusteiden tavoitteena on suojella terveydenhuoltohenkilöstöä ja potilaita kehon nesteiltä ja tartuntavaarallisilta organismeilta, jotka tarttuvat kosketuksen, pisaroiden tai ilman välityksellä. Henkilökohtaisten suojainten asianmukaisen käytön kriittinen merkitys korostuu kahdessa mahdollisesti kuolemaan johtavassa virusinfektiossa, vakavaan akuuttiin hengitystieoireyhtymään liittyvässä koronaviruksessa ja Ebola-viruksessa, joissa terveydenhuollon henkilöstö sai tartunnan hoitaessaan potilaita henkilökohtaisten suojainten käyttövirheiden vuoksi. Henkilökohtainen hygienia on kuitenkin tärkeää myös vähemmän vaarallisten, mutta erittäin tarttuvien organismien hoidossa. Tässä työssä ehdotetaan kehystä PPE:n testaamiseksi ja arvioimiseksi keskittyen pukusuunnitteluun. Menetelmät. Havainnointitutkimuksessa tunnistettiin ongelmia, jotka saattavat aiheuttaa kontaminaatiopotentiaalia ja jotka liittyvät aamutakin käyttöön. Nykyisen aamutakin uudelleensuunnittelun jälkeen toteutettiin potilassimulaattoritutkimus, johon osallistui 40 terveydenhuollon ammattilaista, ja siinä arvioitiin aamutakin uudelleensuunnittelua käyttämällä kahta yleisesti suoritettua tehtävää. Kiinnostavia muuttujia olivat menettelytapastandardien noudattamatta jättäminen, kaapin käyttöongelmat tehtävää suoritettaessa sekä vakiomallisen ja uudelleen suunnitellun kaapin käytettävyys- ja kognitiivisen tehtävän kuormittavuusluokitukset. Tulokset. Vaikka nykyisen ja uudelleen suunnitellun kaavun välillä ei havaittu eroja noudattamatta jättämisen ja käyttöongelmien osalta, erot käytettävyyden ja tehtävien kuormittavuuden arvioinneissa viittasivat siihen, että terveydenhuoltohenkilöstö piti uudelleen suunniteltua kaavua parempana. Päätelmät. Tässä työssä ehdotetaan kehystä, jonka avulla voidaan ohjata henkilönsuojainten arviointia. Tulokset viittaavat siihen, että PPE-puvun nykyistä suunnittelua voidaan parantaa käytettävyyden ja käyttäjätyytyväisyyden osalta. Vaikka aineistossamme ei havaittu, että protokollan noudattaminen olisi lisääntynyt, kun käytettiin uudelleen suunniteltua pukua, on todennäköistä, että parempi käytettävyys ja vähäisempi tehtäväkuormitus voisivat johtaa parempaan noudattamiseen pidempien käyttöjaksojen aikana.

**Tulos**

Uudelleen suunnitellun henkilökohtaisen suojavarustetakin arviointi

**Esimerkki 1.336**

Ihmisen immuunikatoviruksen tyypin 1 (HIV-1) viruksen suuri mutaatiovauhti on suuri ongelma, koska se kiertää vasta-aineiden ja kemiallisten inhibiittorien toiminnan. Tässä esitellään synteettisen biologian periaatteisiin perustuva viruksen havaitsemisstrategia, jonka avulla voidaan havaita tietty viruksen toiminto eikä tiettyä virusproteiinia. Mutaatioiden aiheuttama resistenssi voidaan kiertää, sillä mutaatiot, jotka aiheuttavat funktion menetyksen, tekevät myös viruksen toimintakyvyttömäksi. Monet patogeenit koodaavat proteaaseja, jotka ovat välttämättömiä niiden replikaatiolle ja joilla on määritelty substraattispesifisyys. Geneettisesti koodattu anturi, joka koostuu fuusioidusta kalvoankkurista, viruksen proteaasin kohdekohdasta ja ortogonaalisesta transkription aktivaattorista, on kehitetty ihmisen solulinjaan. HIV-1-proteaasi vapautti transkriptionaalisen aktivaattorin kalvosta, mikä indusoi valittujen geenien transkription. Laite aktivoitui edelleen vahvasti kliinisesti merkityksellisillä proteaasi-inhibiittoreille resistenteillä proteaasimutaatioilla. Tulevaisuudessa vastaavaa periaatetta voitaisiin soveltaa myös muiden patogeenien ja toimintojen havaitsemiseen.

**Tulos**

Toimintopohjainen mutaatiokestävä synteettinen signalointilaite, joka aktivoituu HIV-1-proteolyysin avulla.

**Esimerkki 1.337**

Tutkimme, onko sijoittajien mieliala, jota Maailman terveysjärjestön (WHO) varoitukset ja tiedotusvälineiden uutiset vaarallisista tartuntataudeista ohjaavat, hinnoiteltu lääkeyhtiöiden osakkeisiin Yhdysvalloissa. Väitämme, että tauteihin liittyvien uutisten ei pitäisi laukaista rationaalista kaupankäyntiä. Havaitsemme, että DRN:illä on positiivinen ja merkittävä vaikutus sijoittajien mielialaan (Wall Streetillä). Vaikutus on voimakkaampi (heikompi) pienissä (suurissa) yrityksissä, jotka osallistuvat vähemmän (todennäköisemmin) uusien rokotteiden kehittämiseen. Mahdollinen negatiivinen sijoittajailmapiiri (Main Streetillä), joka johtuu tautiin liittyvästä pelosta, ei muuta positiivista mielialavaikutusta.

**Tulos**

Vaaralliset tartuntataudit: Huonoja uutisia Main Streetille, hyviä uutisia Wall Streetille?

**Esimerkki 1.338**

Huolimatta lukuisista tutkimuksista, jotka osoittavat merkittävää sairastuvuutta ja kuolleisuutta, joka johtuu hengitysteiden virusinfektioista intensiivisesti hoidetuilla hematologisilla potilailla, ja huolimatta näyttöön perustuvien ohjeiden saatavuudesta hengitysteiden virusinfektioiden diagnosoimiseksi ja hoitamiseksi tässä ympäristössä, hengitysteiden virusinfektioiden hoitoa ei ole sisällytetty yhtenäisesti kliiniseen hematologian rutiiniin. Kuitenkin CRV-infektioiden oikea-aikaisella diagnosoinnilla ja järjestelmällisellä hoidolla intensiivisesti hoidetuilla hematologisilla potilailla on todistetusti mahdollisuus parantaa hoitotulosta merkittävästi. Olemme tehneet lyhyen yhteenvedon CRV-infektioiden epidemiologiasta hiljattain julkaistuista tiedoista sekä ohjeista, jotka koskevat CRV-infektioiden diagnosointia ja hoitoa hematologisten pahanlaatuisten kasvainten vuoksi intensiivisesti hoidetuilla potilailla. Olemme myös arvioineet käytettävissä olevia hoitovaihtoehtoja sekä maininneet kehitteillä olevat uudet aineet.

**Tulos**

mikro-organismit Ovatko hengitystieinfektiot aliarvioitu taakka hematologian potilaiden keskuudessa?

**Esimerkki 1.339**

Ihmisen koronavirukset (HCV) ovat tärkeitä taudinaiheuttajia, jotka aiheuttavat hengitystie-, ruoansulatuskanavan ja mahdollisesti neurologisia sairauksia. HCV-229E-prototyyppikannan molekyylibiologian ymmärtämiseksi paremmin määritettiin mRNA:iden 4 ja 5 5'-yksityisalueiden nukleotidisekvenssit kloonatuista cDNA:ista. MRNA:sta 4 syntetisoitujen cDNA:iden sekvenssianalyysi paljasti merkittävän eron aiemmin julkaistuihin tuloksiin. Tämän alueen polymeraasiketjureaktiomonistaminen osoitti kuitenkin, että sekvensoidut cDNA:t oli tuotettu pienemmistä RNA-lajeista, mikä on osoitus mahdollisesta geneettisestä polymorfismista viruksen genomin tällä alueella. Mutatoitunut lähetti-rna 4 sisältää kaksi ORF:ää: (1) 132 nukleotidia käsittävä ORF4a, joka mahdollisesti koodaa 44 aminohappoa sisältävää polypeptidiä, jonka pituus on 4653 Da; tätä koodaavaa sekvenssiä edeltää konsensus transkription aloitussekvenssi, CUAAACU, joka on samanlainen kuin N- ja M-geenien yläjuoksulla olevat sekvenssit; (2) 249 nukleotidia käsittävä ORF4b, joka mahdollisesti koodaa 83 aminohappoa sisältävää emäksistä ja leusiinipitoista polypeptidiä, jonka pituus on 9550 Da. Toisaalta mRNA 5 sisältää yhden ainoan 231 nukleotidin ORF:n, joka voisi koodata 77 aminohappoa sisältävää emäksistä ja leusiinipitoista polypeptidiä, jonka pituus on 9046 Da. Tällä oletetulla proteiinilla on huomattava aminohappohomologia (33 %) tarttuvassa gastroenteriittikoronaviruksessa (TGEV) esiintyvän vastineensa kanssa. Näiden kahden eri viruksen proteiineilla on samanlainen molekyylipaino ja ne ovat erittäin hydrofobisia.

**Tulos**

Ihmisen koronaviruksen 229E mRNA:iden 4 ja 5 sekvenssianalyysi: todisteet polymorfismista ja homologiasta myeliinin perusproteiinin kanssa.

**Esimerkki 1.340**

Yhteensä 29 ulostenäytettä, jotka kerättiin koirilta, joilla oli ripuli koiran parvovirusrokotuksen (CPV) jälkeen, testattiin minor groove binder (MGB) -testillä CPV-rokotteen ja kenttäkantojen erottamiseksi toisistaan sekä diagnostisilla testeillä muiden koirapatogeenien havaitsemiseksi. Viidestätoista näytteestä löytyi positiivinen tulos ainoastaan CPV:n kenttäkannoille; kolmessa näytteessä havaittiin kuitenkin sekä rokote- että kenttäkantoja. Yhdentoista näytteen todettiin sisältävän ainoastaan rokotekantaa, vaikka kahdeksan niistä testattiin positiivisiksi muiden koirien taudinaiheuttajien osalta. Vain kolmen näytteen todettiin sisältävän rokotekantaa ilman todisteita koiran patogeeneistä. Tämä tutkimus vahvistaa, että useimmat pian rokotuksen jälkeen ilmenevät parvoviruksen kaltaiset tautitapaukset liittyvät pikemminkin infektioon koirien parvovirus tyypin 2 (CPV-2) kenttäkannoilla kuin rokotteen sisältämän modifioidun elävän viruksen virulenssin palautumiseen.

**Tulos**

Vakavan gastroenteriitin esiintyminen pennuilla koiran parvovirusrokotteen antamisen jälkeen: Kliininen ja laboratoriodiagnostinen pulma

**Esimerkki 1.341**

Edelleen pettymyksiä houkuttelevasta ideasta - Hengitysteiden limakalvopinnat ovat useimpien ihmisvirusten tärkein pääsyportti ja nisäkkäiden immunologisen repertuaarin kriittinen osa. Tärkein vasta-aineisotyyppi ulkoisissa eritteissä on sekretorinen immunoglobiini A (S-IgA). Limakalvopintojen tärkeimmät efektorisolut eivät kuitenkaan ole IgA-B-soluja vaan T-lymfosyyttejä, joiden osuus limakalvon imusolupopulaatiosta voi olla jopa 80 prosenttia. - Limakalvojen immunoprofylaksi on teoriassa tärkeä lähestymistapa näiden portaalien kautta hankittujen infektioiden torjuntaan. Passiiviset vasta-aineet voivat suojata limakalvojen virusinfektioita vastaan, kuten hengitystiesynktioviruksen kohdalla on osoitettu, mutta viruksen lisääntymisen rajoittamiseksi limakalvon pinnalla tarvitaan hyvin suuria määriä passiivisia vasta-aineita. - Limakalvon vasta-aineita ja soluvälitteisiä immuunivasteita todennäköisesti aiheuttavia tekijöitä ovat muun muassa suun kautta tai hengitysteitse tapahtuva immunisointi ja aktiiviset (tehokkaasti monistuvat) rokotusaineet. - Hyvin vähän virusrokotteita on kehitetty suojaamaan hengitysteiden limakalvopintaa, ja vain heikennetty influenssavirusrokote käyttää nenäreittiä. Muita parenteraaliseen käyttöön hyväksyttyjä rokotteita on kokeellisesti annettu nenän kautta; niihin kuuluu aktiivisia (replikoituvia) ja inaktiivisia (ei-replikoituvia) rokotteita. Tällä reitillä ne saavat aikaan vain kohtalaisen paikallisen limakalvovasteen. - Limakalvoimmuniteetin kehittyminen tai rokotteiden antaminen limakalvoteitse ei ole välttämätöntä useimpien hengitystieinfektioiden ja hengitysteiden kautta tarttuvien tautien torjumiseksi tai ehkäisemiseksi. Kuitenkin esimerkki elävästä heikennetystä intranasaalisesta influenssarokotteesta, joka saa aikaan sekä systeemisen että paikallisen immuunivasteen, on lupaava esimerkki limakalvoimmunisaation tulevaisuudesta hengitysteiden virusinfektioita vastaan.

**Tulos**

Vaccination antivirale et immunité muqueuse respiratoire Un concept séduisant pour des résultats encore décevants Avainkohdat Immunologie/Virologie

**Esimerkki 1.342**

SIR- ja SEIR-mallit Bayesin päättely Mallin valinta Tunnistamattomuus Karanteeni Epidemian huippuajankohta a b s t r a k t Wuhanin kaupungissa joulukuussa 2019 puhjenneen COVID-19-epidemian jälkeen on raportoitu lukuisia malliennusteita COVID-19-epidemiasta Wuhanissa ja muualla Kiinassa. Näissä malliennusteissa on ollut suurta vaihtelua. Tutkimuksessamme osoitamme, että tunnistamattomuus vahvistettuja tapaustietoja käyttävissä mallikalibroinneissa on tärkein syy tällaisiin laajoihin vaihteluihin. Käyttämällä Akaiken informaatiokriteeriä (AIC) mallin valinnassa osoitamme, että SIR-malli edustaa vahvistettujen tapausten tietojen sisältämää tietoa paljon paremmin kuin SEIR-malli. Tämä osoittaa, että monimutkaisempien mallien avulla tehdyt ennusteet eivät välttämättä ole luotettavampia kuin yksinkertaisemman mallin avulla tehdyt ennusteet. Esittelemme malliennusteemme COVID-19-epidemiasta Wuhanissa sen jälkeen, kun kaupunki oli suljettu ja karanteenissa 23. tammikuuta 2020. Raportoimme myös tuloksemme mallintamalla kaupungissa 7. helmikuuta jälkeen toteutettujen tiukkojen karanteenitoimenpiteiden vaikutuksia epidemian ajalliseen kulkuun ja mallintamalla toisen taudinpurkauksen mahdollisuutta sen jälkeen, kun kaupunki on palannut töihin.

**Tulos**

-NC-ND-lisenssi (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

**Esimerkki 1.343**

Sorsalepät ovat pieniä, kelluvia vesikasveja, joilla on useita hyödyllisiä ominaisuuksia, kuten syötävyys, nopea kasvu ja klooninen lisääntyminen. Ankkalehtiä syötetään myös eläimille ruokavalion täydennykseksi niiden korkean ravintoarvon vuoksi. Porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) on porsaiden kuolemaan johtavan ripulin pääasiallinen aiheuttaja, ja se on vakava ongelma sikataloudessa. Tässä tutkimuksessa arvioimme, onko mahdollista tuottaa suojaavaa antigeenia PEDV:n piikkiproteiini 1:lle käyttämällä sorsalemmikkiä, Lemna minor. Vakaasti transformoitunut Lemna saatiin rinnakkaisviljelyllä PEDV-piikkiproteiinigeenin sisältävän A. tumefaciens EHA105:n kanssa. Siirtogeenin integroituminen ja PEDV-piikkiproteiini 1 -geenin ilmentyminen vahvistettiin genomisella PCR:llä ja RT-PCR:llä sekä Western blot -analyysillä siirtogeenisestä Lemnasta. Tämä on ensimmäinen raportti rokoteantigeenin ilmentymisestä eläinten tartuntatautia vastaan sorsalemmikissä. Muita avainsanoja: vesikasvi, sikaripuli, piikkiproteiini, transformaatio, rokote Hort. Environ. Biotechnol. 52(5):511-515. 2011.

**Tulos**

PEDV:n suojaavan antigeenin ilmentäminen siirtogeenisessä sorsalemmikissä, Lemna minorissa.

**Esimerkki 1.344**

Lapset, joilla on post-infektiivinen bronkioliitti obliterans (PIBO), joutuvat usein sairaalahoitoon akuutin pahenemisvaiheen vuoksi, mutta PIBO:n pahenemisvaiheen erottaminen akuutista bronkioliitista on usein haastavaa, mikä voi johtaa hoidon viivästymiseen ja krooniseen keuhkojen toiminnan heikkenemiseen. Tarkoituksenamme oli tutkia, voisivatko seerumin YKL-40 ja kasvutekijät olla PIBO:n pahenemisvaiheen merkkiaineita. Kolmekymmentäseitsemän PIBO:n akuutin pahenemisvaiheen vuoksi hoitoon otettua lasta otettiin mukaan ja tutkittiin retrospektiivisesti. PIBO-diagnoosi perustui kliiniseen anamneesiin akuutista hengitystieinfektiosta, jota seurasi jatkuva hengitysteiden tukkeutuminen, ja korkearesoluutioisen tietokonetomografian tyypillisiin löydöksiin. YKL-40:n, verisuonten endoteelin kasvutekijän (VEGF), transformoivan kasvutekijän (TGF)-β1:n ja verihiutaleista peräisin olevan kasvutekijän (PDGF)-BB:n seerumipitoisuudet mitattiin sisäänoton yhteydessä. Biomarkkereita tutkittiin myös positiivisina kontrolleina toimineilta lapsilta, jotka otettiin vastaan akuutin bronkioliitin vuoksi (N = 30), ja iän suhteen vertailukelpoisilta kontrolleilta (N = 20). Ainoastaan YKL-40:n pitoisuuksien todettiin olevan merkittävästi korkeammat PIBO-potilailla, joilla oli pahenemisvaihe, kuin bronkioliittipotilailla, ja niillä oli positiivinen korrelaatio taudin vaikeusasteen kanssa ennen PIBO-diagnoosia. Päätelmät: Tuloksemme viittaavat siihen, että seerumin YKL-40-pitoisuuksien mittaaminen saattaa auttaa erottamaan PIBO:n pahenemisvaiheen akuutista bronkioliitista pienillä lapsilla.

**Tulos**

Seerumin YKL-40-pitoisuudet voivat auttaa erottamaan infektion jälkeisen bronkioliitti obliteransin pahenemisvaiheen akuutista bronkioliitista pienillä lapsilla.

**Esimerkki 1.345**

Taustaa. Akuutti bakteeriperäinen poskiontelotulehdus on usein virusperäisen ylähengitystieinfektion (URI) komplikaatio. Kuvailemme komplisoitumattomien ja sinuiittijaksoa edeltävien URI-tulehdusten kliinisiä ja virologisia piirteitä. Oletamme, että tietyt virukset johtavat todennäköisemmin akuuttiin poskiontelotulehdukseen, ja vertaamme poskiontelotulehduksen diagnoosin yhteydessä tunnistettuja viruksia niihin viruksiin, jotka tunnistetaan URI:n alkuvaiheessa. Menetelmät. 48-96 kuukauden ikäisiä lapsia seurattiin pitkittäisseurannassa 1 vuoden ajan. Nenänäytteet otettiin seurantakäyntien yhteydessä, URI:n 3-4. päivänä ja 10. päivänä, jolloin sinuiitti diagnosoitiin. Molekyylidiagnostiset testit tehtiin nenänäytteistä tavallisten hengitystievirusten ja patogeenisten bakteerien varalta. Oireiden vaikeusasteen määrittämiseen käytettiin standardoitua pistemäärää. Tulokset. Arvioimme 519 URI:tä, ja 37 sairautta 31 potilaalla täytti sinuiitin kriteerit. Hengitysteiden syncytialivirus havaittiin useammin sinuiittiin johtaneissa URI-käynneissä kuin komplisoitumattomissa URI-käynneissä (10,8 % vs. 3,4 %; P = 0,05). Uusia viruksia havaittiin 29 prosentissa sinuiittijaksoista, ja niiden kuvio oli erilainen kuin seurannassa havaittu kuvio. Komplisoitumattomien URI:iden mediaanimäärä tutkittavaa kohti vuodessa oli 1 (vaihteluväli 0-9) ja sinuiittipotilaiden 3 (vaihteluväli 1-9) (P < .001). Päätelmät. Lapset, joille kehittyi sinuiitti, sairastivat useammin URI:itä kuin lapset, joiden URI:t pysyivät komplisoitumattomina. Kun nenänäytteet otettiin akuutin sinuiitin diagnoosipäivänä, lähes 30 prosentilla lapsista tunnistettiin uusi virus, mikä viittaa siihen, että joillakin lapsilla, joilla katsottiin olevan sinuiitti, oli peräkkäisiä virusinfektioita.

**Tulos**

Kliiniset infektiosairaudet Lasten akuutin sinuiitin kliiniset ja virologiset ominaisuudet

**Esimerkki 1.346**

Astrosyytit tuottavat granulosyyttien/makrofagien pesäkkeitä stimuloivaa tekijää (GM-CSF) ja tukevat mikroglian selviytymistä ja lisääntymistä. Tutkiaksemme GM-CSF:n toimintoja keskushermostossa (CNS) tutkimme GM-CSF:n vaikutuksia gliasolujen sytokiinituotantoon. GM-CSF indusoi interleukiini-6:n (IL-6) tuotantoa mikroglioissa, mutta ei astrosyyteissä, annosriippuvaisesti, kuten arvioitiin biotestillä ja IL-6-mRNA:n havaitsemisella käänteisellä transkriptaasi-polymeraasiketjureaktioanalyysillä (RT-PCR). GM-CSF ei indusoinut tumorinekroositekijä (TNF)o~:ta tai IL-1:tä mikroglioissa ja astrosyyteissä, kun taas lipopolysakkaridi indusoi kaikkia näitä sytokiineja. GM-CSF:n aiheuttama IL-6:n induktio mikroglioissa estettiin kokonaan GM-CSF:n vasta-aineilla. IL-3 tai makrofagi-CSF (M-CSF) eivät indusoineet IL-6:n tuotantoa mikroglioissa. Koska mikroglioista peräisin olevat monokiinit IL-1 ja TNFa indusoivat IL-6:n tuotantoa astrosyyteissä mutta eivät mikroglioissa, tulokset osoittavat, että astrosyytit ja mikroglia voivat säädellä IL-6:n tuotantoa vastavuoroisesti eri sytokiinien avulla.

**Tulos**

Interleukiini-6:n selektiivinen induktio hiiren mikroglioissa granulosyytti-makrofagikolonioita stimuloivan tekijän vaikutuksesta.

**Esimerkki 1.347**

Äskettäin tunnistetun Lähi-idän hengitystieoireyhtymän koronaviruksen (MERS-CoV) piikkiglykoproteiini (S) kohdistuu solureseptoriin, dipeptidyylipeptidaasi 4:ään (DPP4). Sekvenssivertailu ja mallinnusanalyysi ovat paljastaneet viruksen piikistä oletetun reseptoria sitovan domainin (RBD), joka välittää tätä vuorovaikutusta. Raportoimme 3,0 Å:n resoluution kiderakenteen MERS-CoV:n RBD:stä, joka on sitoutunut ihmisen DPP4:n solunulkoiseen domeeniin. Tuloksemme osoittavat, että MERS-CoV RBD koostuu ytimestä ja reseptoria sitovasta osa-alueesta. Reseptoria sitova osa-alue on vuorovaikutuksessa DPP4:n β-propellerin kanssa, mutta ei sen sisäisen hydrolaasidomeenin kanssa. MERS-CoV:n RBD:llä ja siihen liittyvällä SARS-CoV:n RBD:llä on suuri rakenteellinen samankaltaisuus ydinalueidensa osalta, mutta reseptoria sitovan alatukialueen osalta ne eroavat huomattavasti toisistaan. Mutageneesitutkimuksissa on tunnistettu useita reseptoria sitovan osa-alueen avainjäännöksiä, jotka ovat kriittisiä viruksen sitoutumiselle DPP4:ään ja pääsylle kohdesoluun. MERS-CoV RBD:n ja DPP4:n välisen rajapinnan atomiset yksityiskohdat antavat rakenteellista ymmärrystä viruksen ja reseptorin vuorovaikutuksesta, mikä voi ohjata terapeuttisten lääkkeiden ja rokotteiden kehittämistä MERS-CoV-infektiota vastaan.

**Tulos**

MERS-CoV:n RBD:n ja DPP4:n kompleksirakenne 986 MERS-CoV:n piikkireseptoria sitovan domeenin rakenne kompleksissa ihmisen DPP4-reseptorin kanssa.

**Esimerkki 1.348**

Taustaa: Krooninen B-hepatiitti (CHB) on edelleen merkittävä ongelma maailmanlaajuiselle kansanterveydelle. Viruksen pysyvyys ja immuuniviat ovat kaksi tärkeintä syytä CHB:hen, ja oletettiin, että seerumin virus-DNA:n ja HBsAg:n ohimenevän puhdistumisen ja "ikkunavaiheen" perusteella aktiivinen immunisaatio hepatiitti B -virusta (HBV) vastaan saattaisi käynnistää tehokkaat isännän immuunivasteet HBV:tä vastaan CHB:n funktionaalisen parantumisen saavuttamiseksi. Menetelmät: Käytettiin kahta kokeellista hiirimallia, joihin hiirille injektoitiin hydrodynaamisesti HBV-DNA:ta tai jotka infektoitiin rekombinantilla AAV/HBV:llä. Arvioitiin "sandwich"-terapeuttista vaikutusta käyttämällä tehokasta ihmisen HBsAg:tä neutraloivaa monoklonaalista vasta-ainetta (G12) yhdessä viruslääkkeen tenofoviiridisoproksiilifumaraatin (TDF) kanssa, jota seurasi aktiivinen immunisaatio HBsAg-HBsAb:llä (mYIC). Tulokset: Yksi G12-injektio poisti nopeasti seerumin HBsAg:n HDI-HBV-kantajahiirillä, ja sillä oli synergistinen vaikutus viruksen DNA-kuorman vähenemiseen, kun TDF annettiin suun kautta. Kun sekä seerumin virus-DNA:n että HBsAg-kuormitus oli alhainen tai sitä ei voitu osoittaa, annettiin mYIC-valmistetta. Virus-DNA:n ja HBsAg:n poistuminen oli tehokkaampaa, ja seerumin HBsAb kehittyi vain näissä "sandwich"-käsitellyissä hiirissä. Näissä hiirissä havaittiin myös tehokkaita maksan sisäisiä HBV:n vastaisia immuunivasteet, mukaan lukien myeloidisolujen aggregaattien muodostuminen CD8+ T-solujen kanssa ja lisääntynyt TNF-α:n ja granzyymi B:n tuotanto. "Sandwich"-yhdistelmähoito ei ainoastaan vähentänyt tehokkaasti HBsAg- ja HBV-DNA-tasoja, vaan se myös indusoi tehokkaan solu- ja humoraalisen immuniteetin, mikä voi johtaa CHB:n toiminnalliseen parantumiseen. Tutkimus kontekstissa -osio HBV:n cccDNA:n pysyvyys ja erilaiset isännän immuuniviat osoittautuivat kahdeksi tärkeimmäksi esteeksi HBV:n puhdistumiselle. Yhden kohteen estäminen ei riitä CHB:n toiminnallisen parantumisen saavuttamiseen. Hyvin pieni osa CHB-potilaista voisi saavuttaa "toiminnallisen parannuksen" antiviraalisen hoidon avulla fol- \* Vastaavat kirjoittajat. .cn (Z. Yuan). ja interferonihoito. CHB:n hoidollinen rokottaminen osoitti huomattavaa tehoa. Humanisoitu HBsAb G12 pystyi tehokkaasti estämään HBV-infektion ja vähentämään HBsAg-tasoa hiirimallissa. Tämä tutkimus osoitti, että kun sekä seerumin virus-DNA:n että HB-sAg-kuorman määrä oli alhainen tai sitä ei voitu havaita viruslääkitys- ja HBsAb-hoidolla, terapeuttisen rokotteen (mYIC) lisääminen indusoi tehokkaita, isännän humoraalisia ja maksansisäisiä soluvälitteisiä HBV:n vastaisia immuunivasteita, joiden avulla HBV ja HBsAg poistuvat nopeammin ja tehokkaammin. Optimoitu viruslääkehoito, jossa käytetään tehokasta ihmisen HB-sAb:tä seerumin HBsAg:n nopeaksi vähentämiseksi ja jonka jälkeen isäntää tehostetaan aktiivisella immunisaatiolla, tarjoaa uudenlaisen strategian CHB:n toiminnalliseen parantamiseen.

**Tulos**

Antiviraalisen - passiivisen - aktiivisen immunisoinnin ("sandwich") terapeuttisen strategian arviointi kroonisen B-hepatiitin toiminnalliseksi parantamiseksi hiirillä.

**Esimerkki 1.349**

Clara-solut ovat ei-hilseileviä, erittäviä keuhkoputkien epiteelisoluja, joiden tehtävänä on detoksifioida haitallisia hengitettyjä aineita. Clara-solut toimivat myös kantasoluina/progenitorisoluina, jotka korjaavat keuhkoputkia. Clara-solujen erittyvä proteiini (CCSP) ilmentyy erityisesti keuhkojen Clara-soluissa, ja sitä käytetään yleisesti Clara-solujen merkkiaineena. Lisäksi CCSP:n promoottoria käytetään yleisesti geeniekspression ohjaamiseen keuhkoihin siirtogeenisissä malleissa. CCSP:n immunoreaktiivisuuden löytyminen hengitysteiden limakalvosolujen plasmakalvoilta sai meidät tutkimaan mahdollisuutta rikastaa Clara-soluja virtaussytometrialla. Kehitimme uudenlaisen ja yksinkertaisen menetelmän CCSP:tä ilmentävien Clara-solujen eristämiseksi käyttämällä mekaanisen ja entsymaattisen dissosiaation yhdistelmää, jota seuraa virtaussytometrinen lajittelutekniikka. Osoitimme, että ,25 prosenttia koko keuhkosta dissosioituneista soluista ilmentää CCSP:tä. Tuloksena saadussa valmisteessa jopa 98 % soluista ilmaisi CCSP:tä. Erityisesti havaitsimme, että useat yleiset kantasolujen merkkiaineet, kuten CD44, CD133, Sca-1 ja Sox2, ilmentyivät CCSP+-soluissa. Lisäksi CCSP+-solut pystyivät muodostamaan sferoidipesäkkeitä in vitro 0,97 prosentin tehokkuudella. Samanaikaiset in vivo -tutkimukset vahvistivat, että hiiren hengitysteissä oleva pieni CCSP 2:ta ilmentävien solujen populaatio osoittaa myös kantasolujen kaltaisia ominaisuuksia, kuten leiman säilyttämistä ja harvinaisten bronkioalveolaaristen kantasolujen (BASC) esiintymistä terminaalisissa bronkioleissa (TB). Johtopäätöksenä voidaan todeta, että CCSP+-soluilla on useita kantasolujen kaltaisia ominaisuuksia, kuten kantasolujen merkkiaineiden ilmentyminen, bronkosfäärien pesäkkeiden muodostuminen ja itseuudistumiskyky. Clara-solujen eristäminen virtaussytometrisellä lajittelulla on hyödyllinen menetelmä primaaristen Clara-solujen toiminnan tutkimiseen kantasolututkimuksessa ja hiirimalleissa.

**Tulos**

Uusi menetelmä sellaisten hiiren Clara-solujen erittävää proteiinia ilmentävien solujen eristämiseksi, joissa on jälkiä kantasoluisuudesta.

**Esimerkki 1.350**

Koronavirukset kuuluvat Coronaviridae-heimoon, ja ne aiheuttavat pääasiassa infektioita isäntien ylähengitysteihin ja ruoansulatuskanavaan. Tarttuva gastroenteriittivirus (TGEV) on taloudellisesti merkittävä koronavirus, joka voi aiheuttaa sioille vakavaa ripulia. Hopean nanomateriaalit (Ag NM) ovat herättäneet suurta kiinnostusta viime vuosina niiden erinomaisten mikro-organismeja vastaan tarkoitettujen ominaisuuksien vuoksi. Tässä tutkimuksessa valittiin neljä edustavaa Ag NM -materiaalia, mukaan lukien pallomaiset Ag-nanohiukkaset (Ag NP, NM-300), kahdenlaiset hopean nanodrimat (XFJ011) ja hopeakolloidit (XFJ04), jotta voitaisiin tutkia niiden estävää vaikutusta TGEV:n aiheuttamaan isäntäsolujen infektioon in vitro. Ag NP:t olivat tasaisesti jakautuneita, ja niiden hiukkaskoko oli alle 20 nm ympäristön pyyhkäisyelektronimikroskoopin ja läpäisyelektronimikroskoopin karakterisoinnin mukaan. Kahdenlaiset hopean nanohiutaleet olivat halkaisijaltaan 60 nm ja 400 nm. Hopeakolloidien keskimääräinen halkaisija oli noin 10 nm. TGEV-infektio indusoi apoptoosin esiintymisen sikojen kivessoluissa (ST), alensi Bcl-2:n ilmentymistä, lisäsi Baxin ilmentymistä, muutti mitokondrioiden kalvopotentiaalia, aktivoi p38 MAPK-signaalireitin ja lisäsi p53:n ilmentymistä, kuten osoitettiin immunofluoresenssimäärityksillä, reaaliaikaisella PCR:llä, virtaussytometrialla ja Western blotilla. Myrkyttömissä pitoisuuksissa Ag NP:t ja hopean nanolangat vähensivät merkittävästi TGEV:n infektiivisyyttä ST-soluissa. Lisäksi lisätulokset osoittivat, että Ag NP:t ja hopean nanolangat vähensivät TGEV:n aiheuttamien apoptoottisten solujen määrää säätelemällä p38/mitokondriot-kaspaasi-3-signalointireittiä. Tietomme osoittavat, että Ag NM:t ovat tehokkaita TGEV-välitteisen soluinfektion estämisessä viruksentorjunta-aineena tai viruksen sisäänpääsyn estäjänä, ja nykyiset havainnot voivat tarjota uusia näkemyksiä koronavirusten viruslääkehoitoon.

**Tulos**

Hopeananomateriaalien estävä vaikutus tarttuvien virusten aiheuttamiin isäntäsolujen infektioihin

**Esimerkki 1.351**

MS-tauti on immuunivälitteinen keskushermoston (CNS) sairaus, jolle on ominaista demyelinaatio, aksonivaurio ja neurologinen vammautuminen. Tämän keskushermoston sairauden ensisijainen syy on edelleen vaikeasti selvitettävissä. Käsittelemme tässä yhteydessä nykyistä käsitystämme virusten roolista MS-taudin mahdollisina ympäristöperäisinä aiheuttajina. Virusinfektiot voivat vaikuttaa perifeerisesti (keskushermoston ulkopuolella) tai keskushermoston sisällä. Keskustellaan virusinfektioiden yhteydestä demyelinoivaan tautiin sekä eläimillä että ihmisillä sekä Torque Teno -viruksen perifeerisen infektion, Epstein-Barr-viruksen infektion keskushermoston ulkopuolella ja/tai keskushermoston sisällä ja ihmisen herpesvirus 6:n infektion keskushermoston sisällä aiheuttamasta MS-taudin mahdollisesta vaikutuksesta. Kokeellinen eläinmalli, Theilerin hiiren enkefalomyeliittiviruksen aiheuttama infektio alttiissa hiirikannoissa on esimerkki CNS:n virusinfektioista demyelinaation edellytyksenä. Lopuksi tutkitaan ehdotusta, jonka mukaan MS-taudin kaltaisen taudin kehittyminen edellyttää useita virusinfektioita, jotka ensin käynnistävät immuunijärjestelmän ja sitten laukaisevat taudin, mallina, jossa keskushermoston ulkopuoliset infektiot johtavat tulehduksellisiin muutoksiin keskushermostossa.

**Tulos**

MS-taudin mahdolliset laukaisijat

**Esimerkki 1.352**

Taustaa: RNA:n sekundäärirakenteita ennustavien laskennallisten menetelmien tarkkuuden ja tehokkuuden parantaminen on jatkuva haaste. Nykyiset vapaan energian minimointiin perustuvat menetelmät ovat yleensä hyvin hitaita ja niillä voidaan ennustaa vain rajoitetusti pseudoknootteja. Tunnetun rakennetiedon sisällyttäminen voi parantaa ennustustarkkuutta; pseudoknottirakenteiden ennustamiseen ei kuitenkaan ole olemassa monia menetelmiä, jotka voivat sisällyttää rakenteellista tietoa syötteenä. Vielä vähemmän on tietoa näiden menetelmien suhteellisesta kestävyydestä osittaisen tiedon suhteen. Esittelemme uuden menetelmän, Iterative HFold, pseudoknotted RNA:n sekundäärirakenteen ennustamiseen. Iteratiivinen HFold ottaa syötteenä pseudoknottivapaan rakenteen ja tuottaa mahdollisesti pseudoknottisen rakenteen, jonka energia on vähintään yhtä alhainen kuin minkä tahansa (tiheys-2) pseudoknottisen rakenteen, joka sisältää syötteen rakenteen. Iteratiivinen HFold hyödyntää aiempien menetelmien vahvuuksia, nimittäin HFoldin nopeaa suoritusaikaa, hierarkkiseen taittohypoteesiin perustuvaa menetelmää ja HotKnots V2.0:n energiaparametreja. Kokeellinen arviointi laajalla aineistolla osoittaa, että Iterative HFold on vankka osittaisen tiedon suhteen, ja keskimääräinen tarkkuus pseudoknottirakenteissa kasvaa tasaisesti noin 54 prosentista 79 prosenttiin, kun käyttäjä antaa jopa 40 prosenttia syötteestä. Iteratiivinen HFold on paljon nopeampi kuin HotKnots V2.0, mutta sen tarkkuus on vertailukelpoinen. Iteratiivisen HFoldin tarkkuus on myös huomattavasti parempi kuin IPknotin HK-PK- ja IP-pk168-tietoaineistoissa. Iteratiivinen HFold on vankka menetelmä pseudoknottisten RNA:n sekundäärirakenteiden ennustamiseen, jonka tarkkuus yli 5 %:n tietämyksellä todellisista pseudoknottivapaista rakenteista on parempi kuin IPknotilla, ja noin 35 %:n tietämyksellä todellisista pseudoknottivapaista rakenteista se on verrattavissa hyvin HotKnots V2.0:n tarkkuuteen, mutta samalla se on huomattavasti nopeampi. Iteratiivinen HFold ja kaikki tässä työssä käytetyt tiedot ovat vapaasti saatavilla osoitteessa laskennalliset menetelmät RNA-rakenteen ennustamiseen ovat arvokkaita. Tällä hetkellä RNA:n rakenteen ennustamismenetelmät keskittyvät pääasiassa RNA:n sekundäärirakenteen ennustamiseen - niiden emäsparien joukkoon, jotka muodostuvat RNA-molekyylien taittuessa. Kun käytettävissä on useita homologisia (evolutiivisesti sukua olevia) RNA-sekvenssejä, sekvenssien sekundäärirakenne voidaan ennustaa käyttämällä monisekvenssikohdistusta ja vertailevaa sekvenssianalyysiä [11] [12] [13] [14] [15] [16] [17] [18] [19] [20] [21] [22] . Vaihtoehtoisia lähestymistapoja, joita voidaan käyttää yksittäisen sekvenssin sekundaarirakenteen ennustamiseen, ovat seuraavat

**Tulos**

Nopea ja vankka iteratiivinen algoritmi RNA:n pseudoknotted-sekundäärirakenteiden ennustamiseen.

**Esimerkki 1.353**

Kateksiini L:n (CTSL) on osoitettu auttavan hillitsemään leishmaniaasiaa ja mykoplasmainfektiota hiirillä tukemalla soluvälitteisiä immuunivasteita, mutta CTSL:n säätelytoimintoja limakalvojen immuunivasteissa ei ole testattu ja ne ovat edelleen määrittelemättä. Tässä tutkimme CTSL:n vaikutuksia SIgA-vasteisiin ja invarianttien ketjujen (Ii) hajoamiseen sikojen kokoviljellyissä dendriittisoluissa (DC) ja B-solujärjestelmässä in vitro. Kun solujärjestelmä transfektoitiin CTSL-GFP-vektorilla tai inkuboitiin rekombinantti-CTSL:llä (rCTSL) ennen kuin ne infektoitiin Mycoplasma hyopneumoniae (M.hp) -bakteerilla, SIgA lisääntyi merkittävästi ja Ii-ketju hajosi pienemmiksi välituotteiksi, kun taas SIgA väheni, kun CTSL:n toiminta oli tyrehdytetty tai estetty E64:llä. CTSL:n edistämien SIgA-vasteiden osuuden vahvistamiseksi mykoplasmapneumonian vastustuskyvyssä sioilla, jotka saivat rCTSL:ää ennen kuin ne altistettiin M.hp:lle, ilmeni lievempiä kliinisiä oireita ja histopatologisia vaurioita keuhkoissa, vähemmän mykoplasmakuormitusta sekä suurempaa SIgA:n eritystä, CD4+ T-solujen prosentuaalista osuutta ja MHC II -molekyylien tasoa verrattuna ryhmään, jossa ei ollut rCTSL:ää. Nämä tulokset viittaavat siihen, että rCTSL voisi tarjota porsaille tehokkaan suojan mykoplasmapneumoniaa vastaan tehostamalla M.hp-spesifisiä limakalvojen immuunivasteita antigeenin esittelyssä prosessoimalla invariantti-ketjua.

**Tulos**

Katepsiini L edistää sekretorista IgA-vastetta osallistumalla antigeenin esityspolkuihin Mycoplasma Hyopneumoniae -infektion aikana.

**Esimerkki 1.354**

Immunoperoksidaasi (IP) -plakkivärjäysmenetelmän (IP-testi) soveltamista koirien coronavirusinfektion (CCV) diagnosointiin tutkittiin. IP-testi ei reagoinut seerumiin, joka oli peräisin 15:stä erityispatogeenivapaasta (SPF) koirasta tai 7:stä SPF-koirasta, jotka oli immunisoitu monivalenttisella rokotteella, joka sisälsi koiran parvoviruksen tyypin 2, penikkatautiviruksen, koiran adenoviruksen tyypin 2 ja koiran parainfluenssaviruksen. IP-testin ja neutralointitestin (NT) vertailemiseksi tutkittiin 240 terveen koiran ja kolmen kokeellisesti CCV-tartunnan saaneen koiran seerumia. Kaikki 60 NT-vasta-aineen suhteen positiivista seerumia olivat positiivisia IP-vasta-aineen suhteen, ja kaikki 180 NT-vasta-aineen suhteen negatiivista seerumia olivat negatiivisia IP-vasta-aineen suhteen terveillä koirilla. IP-titterit osoittivat samanlaisia muutoksia CCV-inokulaation jälkeisessä ajassa kuin NT-titterit kokeellisesti tartunnan saaneilla koirilla. Nämä havainnot osoittavat, että IP-testi osoitti spesifisesti CCV-vasta-aineet. Kun IP-testiä ja NT-testiä verrattiin koirilla, joilla oli ripulioireita. 2,1 prosenttia 48 seerumista ja 20,3 prosenttia 74 seerumista, jotka kaikki olivat negatiivisia NT-vasta-aineiden suhteen, oli positiivisia IP-vasta-aineiden suhteen alle vuoden ja vähintään vuoden ikäisillä koirilla. IP- ja NT-tiitterien välinen ero (log 10 [IP-tiitterin vastavuoroinen arvo]^log 10 [NT-tiitterin vastavuoroinen arvo]) oli alle vuoden ikäisten ripuloivien koirien kohdalla (2,350+0,931) huomattavasti suurempi kuin terveiden koirien kohdalla (0,982+0,447) (p50,0001), ja NT-tiitteri oli negatiivinen tai hyvin pieni, vaikka IP-tiitteri oli korkea monilla ripuloivilla koirilla. Näin ollen IP-testi pystyy paremmin havaitsemaan CCV-vasta-aineet, erityisesti koirilla, joilla on kliinisiä oireita. IP-positiivisuusaste oli merkitsevästi korkeampi alle vuoden ikäisillä ripuloivilla koirilla (48,7 %) kuin terveillä koirilla (25,0 %) (w 2 = 19,844, p50,0001), mikä viittaa siihen, että CCV voi olla osasyynä monien nuorten koirien ripuliin.

**Tulos**

Koiran coronaviruksen vasta-ainetesti immunoperoksidaasiplakettivärjäyksellä