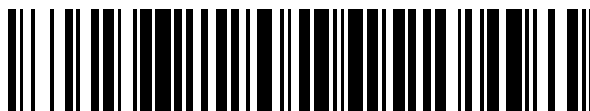


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 787 600**

51 Int. Cl.:

C12N 15/11 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2014** **PCT/US2014/045088**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.01.2015** **WO15002971**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2014** **E 14819490 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.02.2020** **EP 3017044**

54 Título: **Moduladores del receptor de la hormona del crecimiento**

30 Prioridad:

02.07.2013 US 201361842302 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.10.2020

73 Titular/es:

IONIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
2855 Gazelle Court
Carlsbad, CA 92010, US

72 Inventor/es:

BHANOT, SANJAY;
FREIER, SUSAN, M. y
BUI, HUYNH-HOA

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 787 600 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Moduladores del receptor de la hormona del crecimiento

5 **Campo**

Las presentes realizaciones proporcionan métodos, compuestos y composiciones para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento usando compuestos antisentido u oligonucleótidos dirigidos al receptor de la hormona de crecimiento (GHR).

10

Antecedentes

15 La hormona del crecimiento se produce en la hipófisis y se secreta en el torrente sanguíneo, donde se une al receptor de la hormona del crecimiento (GHR) en muchos tipos de células, provocando la producción del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1). El IGF-1 se produce principalmente en el hígado, pero también en el tejido adiposo y el riñón, y se secreta al torrente sanguíneo. Varios trastornos, como la acromegalia y el gigantismo, están asociados con niveles elevados de hormona del crecimiento y/o niveles elevados de IGF-1 en plasma y/o tejidos.

20 La producción excesiva de hormona del crecimiento puede llevar a enfermedades como la acromegalia o el gigantismo. La acromegalia y el gigantismo están asociados con un exceso de hormona del crecimiento, a menudo provocado por un tumor hipofisario, y afecta a 40-50 por millón de personas en todo el mundo, con aproximadamente 15.000 pacientes en cada uno de los Estados Unidos y Europa y una incidencia anual de aproximadamente 4-5 por millón de personas. La acromegalia y el gigantismo se caracterizan inicialmente por el crecimiento anormal de las manos y los pies y cambios óseos en las características faciales. Muchos de los resultados relacionados con el crecimiento están mediados por niveles elevados de IGF-1 en suero.

25 La WO 2004/078922 describe compuestos, composiciones y métodos para modular la expresión del receptor de la hormona del crecimiento y/o el factor de crecimiento similar a la insulina-I (IGF-I).

30 Pellegrini et al. (J Neurosci. 1996 Dic. 15;16(24):8140-8) investigan la implicación de los receptores de hormona de crecimiento de rata expresados centralmente (rGH-R) en el ritmo ultradiano de la secreción de GH de la hipófisis.

35 Tachas et al. (J Endocrinol. 2006 Abr.; 189(1):147-54) investigan la capacidad de un oligodesoxinucleótido modificado para suprimir el ARNm del receptor de GH *in vitro*.

40 Wilkinson-Berka et al. (Mol Vis. 2007 Ago. 29;13:1529-38) investigan si un oligonucleótido antisentido administrado sistémicamente podría inhibir la neovascularización en ratones con retinopatía inducida por oxígeno (OIR).

45 Ran et al. (Yao Xue Bao. 2013 Mar.; 48(3):435-40) investigan el efecto de la hormona de crecimiento humana recombinante (rhGH) sobre la vía JAK2-STAT3 y el crecimiento de líneas celulares de cáncer gástrico en diferentes estados de expresión de GHR.

Sumario

50 La invención proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 18 a 30 nucleósidos enlazados de longitud, en donde el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende una porción de por lo menos 18 nucleobases contiguas 100% complementaria con una porción de igual longitud de las nucleobases 153921-153940 de un ácido nucleico del receptor de la hormona de crecimiento que tiene la secuencia de nucleobases de la SEQ ID NO: 2, en donde la secuencia de nucleobases del oligonucleótido modificado es por lo menos un 90% complementaria a la SEQ ID NO: 2, en donde el compuesto reduce la cantidad de actividad del ácido nucleico del receptor de la hormona de crecimiento.

55 La invención proporciona además una composición que comprende el compuesto de la invención o una sal del mismo y por lo menos uno de un portador o un diluyente farmacéuticamente aceptable.

60 Las realizaciones proporcionadas en la presente se refieren a métodos, compuestos y composiciones para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento. Varias realizaciones proporcionadas en la presente están dirigidas a compuestos antisentido u oligonucleótidos dirigidos al receptor de la hormona del crecimiento (GHR). Varias realizaciones están dirigidas al tratamiento, prevención o mejora de la acromegalia con compuestos antisentido u oligonucleótidos dirigidos al receptor de la hormona del crecimiento (GHR).

65 **Descripción detallada**

Debe entenderse que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son solo ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención, como se reivindica. En la presente, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Como se usa en la presente, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "incluyendo", así como otras formas, como "incluye" e "incluido", no es limitativa. Además, términos como "elemento" o "componente" abarcan tanto elementos como componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una subunidad, a menos que se indique específicamente lo contrario.

Los encabezados de sección usados en la presente son solo con propósitos organizativos y no deben interpretarse como limitativos de la materia descrita.

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

"2'-O-metoxietilo" (también 2'-MOE y 2'-O(CH₂)₂-OCH₃) se refiere a una modificación de O-metoxi-etilo en la posición 2' de un anillo de furanosa. Un azúcar modificado con 2'-O-metoxietilo es un azúcar modificado.

"Nucleósido 2'-MOE" (también nucleósido 2'-O-metoxietilo) significa un nucleósido que comprende una fracción de azúcar modificado 2'-MOE.

"Nucleósido 2' sustituido" significa un nucleósido que comprende un sustituyente en la posición 2' del anillo de furanosilo distinto de H u OH. En ciertas realizaciones, los nucleósidos 2' sustituidos incluyen nucleósidos con modificaciones de azúcar bicíclicas.

"Sitio objetivo 3' " se refiere al nucleótido de un ácido nucleico objetivo que es complementario al nucleótido más 3' de un compuesto antisentido particular.

"Sitio objetivo 5' " se refiere al nucleótido de un ácido nucleico objetivo que es complementario al nucleótido más 5' de un compuesto antisentido particular.

"5-metilcitosina" significa una citosina modificada con un grupo metilo unido a la posición 5. Una 5-metilcitosina es una nucleobase modificada.

"Aproximadamente" significa dentro del $\pm 10\%$ de un valor. Por ejemplo, si se afirma que "los compuestos efectuaron por lo menos aproximadamente un 70% de inhibición de GHR", se implica que los niveles de GHR se inhiben dentro de un intervalo del 60% al 80%.

"Administración" o "administrar" se refiere a vías para introducir un compuesto antisentido proporcionado en la presente a un sujeto para realizar su función pretendida. Un ejemplo de una vía de administración que puede usarse incluye, pero no está limitada a, la administración parenteral, como inyección o infusión subcutánea, intravenosa o intramuscular.

"Mejora" se refiere a una disminución de por lo menos un indicador, signo o síntoma de una enfermedad, trastorno o afección asociados. En ciertas realizaciones, la mejora incluye un retraso o desaceleración en la progresión de uno o más indicadores de una afección o enfermedad. La gravedad de los indicadores puede determinarse mediante medidas subjetivas u objetivas, que son conocidas por los expertos en la técnica.

"Animal" se refiere a un animal humano o no humano incluyendo, pero no limitado a, ratones, ratas, conejos, perros, gatos, cerdos y primates no humanos incluyendo, pero no limitados a, monos y chimpancés.

"Actividad antisentido" significa cualquier actividad detectable o medible atribuible a la hibridación de un compuesto antisentido con su ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la actividad antisentido es una disminución en la cantidad o expresión de un ácido nucleico o proteína objetivo codificados por dicho ácido nucleico objetivo.

"Compuesto antisentido" significa un compuesto oligomérico que es capaz de experimentar hibridación con un ácido nucleico objetivo a través de enlaces de hidrógeno. Los ejemplos de compuestos antisentido incluyen compuestos de cadena sencilla y de cadena doble como oligonucleótidos antisentido, ARNip, ARNhc, ARNmc y compuestos basados en la ocupación.

"Inhibición antisentido" significa la reducción de los niveles de ácido nucleico objetivo en presencia de un compuesto antisentido complementario a un ácido nucleico objetivo en comparación con los niveles de ácido nucleico objetivo en ausencia del compuesto antisentido.

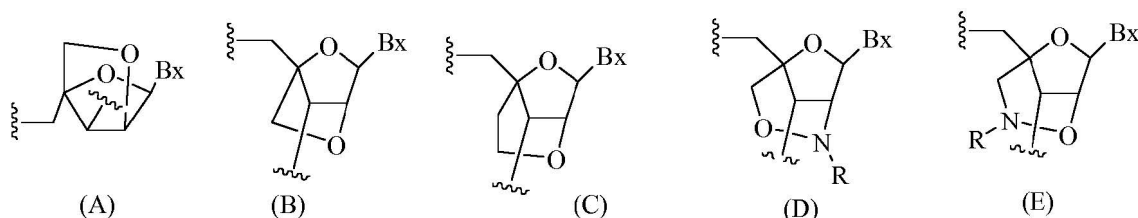
"Oligonucleótido antisentido" significa un oligonucleótido de cadena sencilla que tiene una secuencia de

nucleobases que permite la hibridación con una región o segmento correspondiente de un ácido nucleico objetivo.

"Complementariedad de bases" se refiere a la capacidad para el emparejamiento de bases preciso de nucleobases de un oligonucleótido antisentido con las nucleobases correspondientes en un ácido nucleico objetivo (es decir, hibridación), y está mediada por la unión de hidrógeno de Watson-Crick, de Hoogsteen o de Hoogsteen invertida entre nucleobases correspondientes.

"Fracción de azúcar bicíclico" significa una fracción de azúcar modificado que comprende un anillo de 4 a 7 miembros (incluyendo, pero no limitado a, un furanosilo) que comprende un puente que conecta dos átomos del anillo de 4 a 7 miembros para formar un segundo anillo, dando como resultado una estructura bicíclica. En ciertas realizaciones, el anillo de 4 a 7 miembros es un anillo de azúcar. En ciertas realizaciones, el anillo de 4 a 7 miembros es un furanosilo. En ciertas de tales realizaciones, el puente conecta el carbono 2' y el carbono 4' del furanosilo.

"Ácido nucleico bicíclico" o "BNA" o "nucleósidos de BNA" significa monómeros de ácidos nucleicos que tienen un puente que conecta dos átomos de carbono entre la posición 4' y 2' de la unidad de azúcar de nucleósido, formando de este modo un azúcar bicíclico. Los ejemplos de dicho azúcar bicíclico incluyen, pero no están limitados a A) α -L-Metileneoxi (4'-CH₂-O-2') LNA, (B) β -D-Metileneoxi (4'-CH₂-O-2') LNA, (C) Etileneoxi (4'-(CH₂)₂-O-2') LNA, (D) Aminooxi (4'-CH₂-O-N(R)-2') LNA y (E) Oxiamino (4'-CH₂-N(R)-O-2') LNA, como se representa a continuación.



"cEt" o "etilo restringido" significa una fracción de azúcar bicíclico que comprende un puente que conecta el carbono 4' y el carbono 2', en donde el puente tiene la fórmula: 4'-CH(CH₃)-O-2'.

"Nucleósido de etilo restringido" (también nucleósido cEt) significa un nucleósido que comprende una fracción de azúcar bicíclico que comprende un puente 4'-CH(CH₃)-O-2'.

"Región químicamente distinta" se refiere a una región de un compuesto antisentido que es de alguna manera químicamente diferente que otra región del mismo compuesto antisentido. Por ejemplo, una región que tiene nucleótidos 2'-O-metoxietilo es químicamente distinta de una región que tiene nucleótidos sin modificaciones 2'-O-metoxietilo.

"Complementariedad" significa la capacidad de emparejamiento entre nucleobases de un primer ácido nucleico y un segundo ácido nucleico.

"Comprender", "comprende" y "que comprende" se entenderá que implica la inclusión de un paso o elemento o grupo de pasos o elementos establecidos, pero no la exclusión de cualquier otro paso o elemento o grupo de pasos o elementos.

"Nucleobases contiguas" significa nucleobases inmediatamente adyacentes entre sí.

"Desoxirribonucleótido" significa un nucleótido que tiene un hidrógeno en la posición 2' de la porción de azúcar del nucleótido. Los desoxirribonucleótidos pueden modificarse con cualquiera de una variedad de sustituyentes.

"Diseño" o "Diseñado para" se refiere al proceso de diseño de un compuesto oligomérico que hibrida específicamente con una molécula de ácido nucleico seleccionada.

"Cantidad eficaz" significa la cantidad de agente farmacéutico activo suficiente para efectuar un resultado fisiológico deseado en un individuo con necesidad del agente. La cantidad eficaz puede variar entre individuos dependiendo de la salud y la condición física del individuo a tratar, el grupo taxonómico de los individuos a tratar, la formulación de la composición, la evaluación de la condición médica del individuo y otros factores relevantes.

"Eficacia" significa la capacidad de producir un efecto deseado.

"Expresión" incluye todas las funciones por las cuales la información codificada de un gen se convierte en estructuras presentes y operativas en una célula. Tales estructuras incluyen, pero no están limitadas a, los productos de transcripción y traducción.

"Completamente complementario" o "100% complementario" significa que cada nucleobase de un primer ácido nucleico tiene una nucleobase complementaria en un segundo ácido nucleico. En ciertas realizaciones, un primer ácido nucleico es un compuesto antisentido y un ácido nucleico objetivo es un segundo ácido nucleico.

"Gapmer" significa un compuesto antisentido quimérico en el que una región interna que tiene una pluralidad de nucleósidos que soportan la escisión de RNasa H se coloca entre regiones externas que tienen uno o más nucleósidos, en donde los nucleósidos que comprenden la región interna son químicamente distintos del nucleósido o nucleósidos que comprenden las regiones externas. La región interna puede denominarse "separación" y las regiones externas pueden denominarse "alas".

"Receptor de la hormona de crecimiento (GHR)" significa cualquier ácido nucleico o proteína de GHR. "Ácido nucleico GHR" significa cualquier ácido nucleico que codifica GHR. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un ácido nucleico de GHR incluye una secuencia de ADN que codifica GHR, una secuencia de ARN transcrita a partir de ADN que codifica GHR (incluyendo ADN genómico que comprende intrones y exones), incluyendo una secuencia de ARN que no codifica proteínas (es decir, no codificante), y una secuencia de ARNm que codifica GHR. "ARNm de GHR" significa un ARNm que codifica una proteína GHR.

"Inhibidor específico de GHR" se refiere a cualquier agente capaz de inhibir específicamente la expresión o actividad de ARN de GHR y/o proteína de GHR a nivel molecular. Por ejemplo, los inhibidores específicos de GHR incluyen ácidos nucleicos (incluyendo compuestos antisentido), péptidos, anticuerpos, moléculas pequeñas y otros agentes capaces de inhibir la expresión de ARN de GHR y/o proteína de GHR.

"Hibridación" significa el apareamiento de moléculas de ácido nucleico complementarias. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen, pero no se limitan a, un compuesto antisentido y un objetivo de ácido nucleico. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico complementarias incluyen, pero no están limitadas a, un oligonucleótido antisentido y un objetivo de ácido nucleico.

"Identificar un animal que tiene, o está en riesgo de tener, una enfermedad, trastorno y/o afección" significa identificar a un animal al que se le ha diagnosticado la enfermedad, trastorno y/o afección o identificar un animal predispuesto a desarrollar la enfermedad, trastorno y/o afección. Dicha identificación puede lograrse mediante cualquier método, incluyendo la evaluación del historial médico de un individuo y pruebas o evaluaciones clínicas estándar.

"Inmediatamente adyacente" significa que no hay elementos intermedios entre los elementos inmediatamente adyacentes.

"Individuo" significa un animal humano o no humano seleccionado para tratamiento o terapia.

"Inhibir la expresión o actividad" se refiere a una reducción, bloqueo de la expresión o actividad y no indica necesariamente una eliminación total de la expresión o actividad.

"Enlace internucleosídico" se refiere al enlace químico entre nucleósidos.

"Desoxinucleósido enlazado" significa una base de ácido nucleico (A, G, C, T, U) sustituida por desoxirribosa enlazada por un éster de fosfato para formar un nucleótido.

"Nucleósidos enlazados" significa nucleósidos adyacentes enlazados entre sí por un enlace internucleosídico.

"Malapareamiento" o "nucleobase no complementaria" se refiere al caso en el que una nucleobase de un primer ácido nucleico no es capaz de emparejarse con la nucleobase correspondiente de un segundo ácido nucleico u objetivo.

"Enlace internucleosídico modificado" se refiere a una sustitución o cualquier cambio de un enlace internucleosídico de origen natural (es decir, un enlace internucleosídico fosfodiéster).

"Nucleobase modificada" significa cualquier nucleobase distinta de adenina, citosina, guanina, timidina o uracilo. Una "nucleobase no modificada" significa las bases de purina adenina (A) y guanina (G), y las bases

de pirimidina timina (T), citosina (C) y uracilo (U).

"Nucleósido modificado" significa un nucleósido que tiene, independientemente, una fracción de azúcar modificado y/o una nucleobase modificada.

"Nucleótido modificado" significa un nucleótido que tiene, independientemente, una fracción de azúcar modificado, enlace internucleósido modificado o nucleobase modificada.

"Oligonucleótido modificado" significa un oligonucleótido que comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado, un azúcar modificado y/o una nucleobase modificada.

"Azúcar modificado" significa la sustitución y/o cualquier cambio de una fracción de azúcar natural.

"Modular" se refiere a cambiar o ajustar una característica en una célula, tejido, órgano u organismo. Por ejemplo, modular el ARNm de GHR puede significar aumentar o disminuir el nivel de ARNm de GHR y/o proteína de GHR en una célula, tejido, órgano u organismo. Un "modulador" efectúa el cambio en la célula, tejido, órgano u organismo. Por ejemplo, un compuesto antisentido de GHR puede ser un modulador que disminuye la cantidad de ARNm de GHR y/o proteína de GHR en una célula, tejido, órgano u organismo.

"Monómero" se refiere a una unidad individual de un oligómero. Los monómeros incluyen, pero no están limitados a, nucleósidos y nucleótidos, ya sean de origen natural o modificados.

"Motivo" significa el patrón de nucleósidos no modificados y modificados en un compuesto antisentido.

"Fracción de azúcar natural" significa una fracción de azúcar que se encuentra en el ADN (2'-H) o ARN (2'-OH).

"Enlace internucleosídico de origen natural" significa un enlace fosfodiéster de 3' a 5'.

"Nucleobase no complementaria" se refiere a un par de nucleobases que no forman enlaces de hidrógeno entre sí o que de otro modo soportan la hibridación.

"Ácido nucleico" se refiere a moléculas compuestas de nucleótidos monoméricos. Un ácido nucleico incluye, pero no está limitado a, ácidos ribonucleicos (ARN), ácidos desoxirribonucleicos (ADN), ácidos nucleicos de cadena sencilla y ácidos nucleicos de cadena doble.

"Nucleobase" significa una fracción heterocíclica capaz de emparejarse con una base de otro ácido nucleico.

"Complementariedad de nucleobase" se refiere a una nucleobase que es capaz de emparejar bases con otra nucleobase. Por ejemplo, en el ADN, la adenina (A) es complementaria a la timina (T). Por ejemplo, en el ARN, la adenina (A) es complementaria al uracilo (U). En ciertas realizaciones, nucleobase complementaria se refiere a una nucleobase de un compuesto antisentido que es capaz de emparejar bases con una nucleobase de su ácido nucleico objetivo. Por ejemplo, si una nucleobase en una determinada posición de un compuesto antisentido es capaz de formar enlaces de hidrógeno con una nucleobase en una determinada posición de un ácido nucleico objetivo, entonces se considera que la posición del enlace de hidrógeno entre el oligonucleótido y el ácido nucleico objetivo es complementario en ese par de nucleobases.

"Secuencia de nucleobases" significa el orden de nucleobases contiguas independientes de cualquier modificación de azúcar, enlace y/o nucleobase.

"Nucleósido" significa una nucleobase enlazada a un azúcar.

"Nucleótido" significa un nucleósido que tiene un grupo fosfato enlazado covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido.

"Compuesto oligomérico" significa un polímero de subunidades monoméricas enlazadas que es capaz de hibridar con por lo menos una región de una molécula de ácido nucleico.

"Oligonucleósido" significa un oligonucleótido en el que los enlaces internucleósidos no contienen un átomo de fósforo.

"Oligonucleótido" significa un polímero de nucleósidos enlazados, cada uno de los cuales puede modificarse o no modificarse, independientemente unos de los otros.

"Administración parenteral" significa la administración mediante inyección o infusión. La administración

parenteral incluye administración subcutánea, administración intravenosa, administración intramuscular, administración intraarterial, administración intraperitoneal o administración intracraneal, por ejemplo, administración intratecal o intracerebroventricular.

5 "Composición farmacéutica" significa una mezcla de sustancias adecuadas para administrar a un individuo. Por ejemplo, una composición farmacéutica puede comprender uno o más agentes farmacéuticos activos y una solución acuosa estéril.

10 "Sales farmacéuticamente aceptables" significa sales fisiológica y farmacéuticamente aceptables de compuestos antisentido, es decir, sales que retienen la actividad biológica deseada del oligonucleótido original y no imparten efectos toxicológicos no deseados a los mismos.

15 "Enlace fosforotioato" significa un enlace entre nucleósidos en donde el enlace fosfodiéster se modifica reemplazando uno de los átomos de oxígeno que no forman puentes con un átomo de azufre. Un enlace fosforotioato es un enlace internucleósido modificado.

20 "Porción" significa un número definido de nucleobases contiguas (es decir, enlazadas) de un ácido nucleico. En ciertas realizaciones, una porción es un número definido de nucleobases contiguas de un ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, una porción es un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido

25 "Prevenir" se refiere a retrasar o anticiparse al inicio, desarrollo o progresión de una enfermedad, trastorno o afección durante un período de tiempo de minutos a indefinidamente. Prevenir también significa reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección.

"Cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico que proporciona un beneficio profiláctico o preventivo a un animal.

30 "Región" se define como una parte del ácido nucleico objetivo que tiene por lo menos una estructura, función o característica identificable.

"Ribonucleótido" significa un nucleótido que tiene un hidroxilo en la posición 2' de la porción de azúcar del nucleótido. Los ribonucleótidos pueden modificarse con cualquiera de una variedad de sustituyentes.

35 "Segmentos" se definen como porciones más pequeñas o sub-porciones de regiones dentro de un ácido nucleico objetivo.

40 "Efectos secundarios" significa enfermedad y/o afecciones fisiológicas atribuibles a un tratamiento distintos de los efectos deseados. En ciertas realizaciones, los efectos secundarios incluyen reacciones en el lugar de inyección, anomalías en las pruebas de función hepática, anomalías en la función renal, toxicidad hepática, toxicidad renal, anomalías en el sistema nervioso central, miopatías y malestar general. Por ejemplo, los niveles de aminotransferasa en suero aumentados puede indicar toxicidad hepática o anomalía de la función hepática. Por ejemplo, una bilirrubina aumentada puede indicar toxicidad hepática o anomalía de la función hepática.

45 "Sitios", como se usan en la presente, se definen como posiciones de nucleobase únicas dentro de un ácido nucleico objetivo.

50 "Retrasa la progresión" significa disminución en el desarrollo de dicha enfermedad.

55 "Específicamente hibridable" se refiere a un compuesto antisentido que tiene un grado suficiente de complementariedad entre un oligonucleótido antisentido y un ácido nucleico objetivo para inducir un efecto deseado, a la vez que muestra efectos mínimos o nulos sobre los ácidos nucleicos no objetivo en condiciones en las que se desea una unión específica, es decir, en condiciones fisiológicas en el caso de ensayos *in vivo* y tratamientos terapéuticos. "Condiciones de hibridación rigurosas" o "condiciones rigurosas" se refieren a condiciones bajo las cuales un compuesto oligomérico se hibridará con su secuencia objetivo, pero con un número mínimo de otras secuencias.

60 "Sujeto" significa un animal humano o no humano seleccionado para tratamiento o terapia.

"Objetivo" se refiere a una proteína, de la que se desea la modulación.

"Gen objetivo" se refiere a un gen que codifica un objetivo.

65 "Dirigir" significa el proceso de diseño y selección de un compuesto antisentido que hibridará específicamente

con un ácido nucleico objetivo e inducirá un efecto deseado.

"Ácido nucleico objetivo", "ARN objetivo", "transcrito de ARN objetivo" y "objetivo de ácido nucleico" significan todos un ácido nucleico capaz de ser el objetivo de compuestos antisentido.

"Región objetivo" significa una porción de un ácido nucleico objetivo al que se dirige uno o más compuestos antisentido.

"Segmento objetivo" significa la secuencia de nucleótidos de un ácido nucleico objetivo al que se dirige un compuesto antisentido. "Sitio objetivo 5' " se refiere al nucleótido más 5' de un segmento objetivo. "Sitio objetivo 3' " se refiere al nucleótido más 3' de un segmento objetivo.

"Cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un agente farmacéutico que proporciona un beneficio terapéutico a un individuo.

"Tratar" se refiere a administrar una composición farmacéutica a un animal para realizar una alteración o mejora de una enfermedad, trastorno o afección en el animal. En ciertas realizaciones, pueden administrarse una o más composiciones farmacéuticas al animal.

Nucleobases "no modificadas" significan las bases de purina adenina (A) y guanina (G), y las bases de pirimidina timina (T), citosina (C) y uracilo (U).

"Nucleótido no modificado" significa un nucleótido compuesto de nucleobases, fracciones de azúcar y enlaces internucleosídicos de origen natural. En ciertos aspectos de la divulgación, un nucleótido no modificado es un nucleótido de ARN (es decir, β -D-ribonucleósidos) o un nucleótido de ADN (es decir, β -D-desoxirribonucleósido).

Ciertas realizaciones y aspectos de la divulgación

Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan métodos, compuestos y composiciones para inhibir la expresión del receptor de la hormona del crecimiento (GHR).

Ciertas realizaciones proporcionan compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico de GHR. En ciertos aspectos, el ácido nucleico de GHR tiene la secuencia expuesta en N° de registro GENBANK NM_000163.4 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 1), N° de registro GENBANK NT_006576.16 truncada de los nucleótidos 42411001 a 42714000 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 2), N° de registro GENBANK X06562.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 3), N° de registro GENBANK DR006395.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 4), N° de registro GENBANK DB052048.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 5), N° de registro GENBANK AF230800.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 6), el complemento del N° de registro GENBANK AA398260.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 7), N° de registro GENBANK BC136496.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 8), N° de registro GENBANK NM_001242399.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 9), N° de registro GENBANK NM_001242400.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 10), N° de registro GENBANK NM_001242401.3 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 11), N° de registro GENBANK NM_001242402.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 12), N° de registro GENBANK NM_001242403.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 13), N° de registro GENBANK NM_001242404.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 14), N° de registro GENBANK NM_001242405.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 15), N° de registro GENBANK NM_001242406.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 16), N° de registro GENBANK NM_001242460.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 17), N° de registro GENBANK NM_001242461.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 18), o N° de registro GENBANK NM_001242462.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 19).

Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados y que tiene una secuencia de nucleobases que comprende por lo menos 8 nucleobases contiguas de cualquiera de las secuencias de nucleobases de las SEQ ID NO: 20-2295.

Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados complementarios dentro de los nucleótidos. Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados complementarios dentro de los nucleótidos 153831-154112 de la SEQ ID NO: 2, en donde dicho oligonucleótido modificado es por lo menos un 90% complementario a la SEQ ID NO: 2.

Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que comprende una porción de por lo menos 8 nucleobases contiguas 100% complementarias a una porción de igual

longitud de las nucleobases 153831-154112 de la SEQ ID NO: 2, en donde la secuencia de nucleobases del oligonucleótido modificado es complementaria a la SEQ ID NO: 2 153831-154112.

En ciertas realizaciones, un compuesto u oligonucleótido antisentido dirigido a un ácido nucleico del receptor de la hormona del crecimiento se dirige a las siguientes regiones de nucleótidos de la SEQ ID NO: 2: 153831-154112.

En ciertas realizaciones, los compuestos u oligonucleótidos antisentido se dirigen a una región de un ácido nucleico del receptor de la hormona del crecimiento. En ciertos aspectos de la divulgación, tales compuestos u oligonucleótidos dirigidos a una región de un ácido nucleico de GHR tienen una porción de nucleobase contigua que es complementaria a una porción de nucleobase de igual longitud de la región. Por ejemplo, la porción puede ser por lo menos una porción de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleobases contiguas complementaria a una porción de igual longitud de una región mencionada en la presente. En ciertas realizaciones, tales compuestos u oligonucleótidos se dirigen a las siguientes regiones de nucleótidos de la SEQ ID NO: 2: 153831-154112.

En ciertas realizaciones, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores comprende por lo menos un azúcar modificado. En ciertos aspectos, por lo menos un azúcar modificado comprende un grupo 2'-O-metoxietilo. En ciertos aspectos, por lo menos un azúcar modificado es un azúcar bicíclico, como un grupo 4'-CH(CH₃)-O-2', un grupo 4'-CH₂-O-2' o un grupo 4'-(CH₂)₂-O-2'. En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado, como un enlace internucleósido de fosforotioato.

En ciertas realizaciones, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores comprende por lo menos una nucleobase modificada, como 5-metilcitosina.

En ciertas realizaciones, cualquiera de los compuestos u oligonucleótidos anteriores comprende:

- un segmento de separación que consiste de desoxinucleósidos enlazados;
- un segmento de ala 5' que consiste de nucleósidos enlazados; y
- un segmento de ala 3' que consiste de nucleósidos enlazados;

en donde el segmento de separación está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar modificado.

Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 10 a 30 nucleósidos enlazados que tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 918, 479, 703, 1800, 1904, 2122, 2127 o 2194.

En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia enumerada en las SEQ ID NO: 918, 479 o 703, en donde el oligonucleótido modificado comprende un segmento de separación que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados; un segmento de ala 5' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; y un segmento de ala 3' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; en donde el segmento de separación está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo; en donde cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato y en donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia enumerada en las SEQ ID NO: 1800, 1904, 2122, 2127 o 2194, en donde el oligonucleótido modificado comprende:

- un segmento de separación que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados;
- un segmento de ala 5' que consiste de 3 nucleósidos enlazados; y
- un segmento de ala 3' que consiste de 3 nucleósidos enlazados;

en donde el segmento de separación está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3', en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo o un azúcar de etilo restringido; y en donde cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato.

Ciertas realizaciones proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 20 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 703. En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado comprende por lo menos un azúcar modificado. En ciertos aspectos, el por lo menos un azúcar modificado comprende un grupo 2'-O-metoxietilo. En ciertos aspectos, el por lo menos un azúcar modificado es un azúcar bicíclico, como un grupo 4'-CH(CH₃)-O-2', un grupo 4'-CH₂-O-2' o un grupo 4'-(CH₂)₂-O-2'. En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado, como un enlace internucleósido de fosforotioato. En ciertos

aspectos, el oligonucleótido modificado comprende por lo menos una nucleobase modificada, como una 5-metilcitosina. En ciertos aspectos, el oligonucleótido modificado comprende:

5 un segmento de separación que consiste de desoxinucleósidos enlazados;

un segmento de ala 5' que consiste de nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste de nucleósidos enlazados;

10 en donde el segmento de separación se coloca entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar modificado.

Ciertas realizaciones proporcionan un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 20 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 703, en donde el oligonucleótido modificado comprende:

15 un segmento de separación que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados;

20 un segmento de ala 5' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; y

un segmento de ala 3' que consiste de cinco nucleósidos enlazados;

25 en donde el segmento de separación está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3'; en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo; en donde cada enlace internucleosídico es un enlace fosforotioato; y en donde cada citosina es una 5-metilcitosina.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el compuesto u oligonucleótido puede ser por lo menos un 85%, por lo menos un 90%, por lo menos un 95%, por lo menos un 98%, por lo menos un 99% o un 100% complementario a un ácido nucleico que codifica el receptor de la hormona de crecimiento.

30 En cualquiera de las realizaciones anteriores, el ácido nucleico que codifica el receptor de la hormona de crecimiento puede comprender la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 1-19.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, el compuesto u oligonucleótido puede ser de cadena sencilla.

35 Ciertas realizaciones proporcionan una composición que comprende el compuesto de cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente o una sal del mismo y por lo menos uno de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En ciertos aspectos, la composición tiene una viscosidad menor de aproximadamente 40 centipose (cP), menor de aproximadamente 30 centipose (cP), menor de aproximadamente 20 centipose (cP), menor de aproximadamente 15 centipose (cP) o menor de aproximadamente 10 centipose (cP). En ciertos aspectos, la composición que tiene cualquiera de las viscosidades anteriormente mencionadas comprende un compuesto proporcionado en la presente a una concentración de aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 125 mg/ml, aproximadamente 150 mg/ml, aproximadamente 175 mg/ml, aproximadamente 200 mg/ml, aproximadamente 225 mg/ml, aproximadamente 250 mg/ml, aproximadamente 275 mg/ml o aproximadamente 300 mg/ml. En ciertos aspectos, la composición que tiene cualquiera de las viscosidades y/o concentraciones de compuesto anteriormente mencionadas tiene una temperatura de temperatura ambiente o aproximadamente 20° C, aproximadamente 21° C, aproximadamente 22° C, aproximadamente 23° C, aproximadamente 24° C, aproximadamente 25° C, aproximadamente 26° C, aproximadamente 27° C, aproximadamente 28° C, aproximadamente 29° C o aproximadamente 30° C.

50 Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un método para tratar una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento en un humano que comprende administrar al humano una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o composición de cualquiera de las realizaciones anteriormente mencionadas, tratando de este modo la enfermedad asociada con un exceso de la hormona de crecimiento. En ciertos aspectos, la enfermedad asociada con el exceso de la hormona del crecimiento es la acromegalia. En ciertos aspectos, el tratamiento reduce los niveles de IGF-1.

60 Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un método para prevenir una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento en un humano que comprende administrar al humano una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición de cualquiera de las realizaciones mencionadas anteriormente, evitando de este modo la enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento. En ciertos aspectos de la divulgación, la enfermedad asociada con el exceso de hormona del crecimiento es la acromegalia.

65 Ciertos aspectos de la divulgación proporcionan un método para reducir los niveles del receptor de la hormona del crecimiento (GHR) en un humano que comprende administrar al humano una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o composición de cualquiera de las realizaciones mencionadas

anteriormente, reduciendo de este modo los niveles de GHR en el humano. En ciertos aspectos, el humano tiene una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento. En ciertos aspectos, la enfermedad asociada con el exceso de hormona del crecimiento es la acromegalia.

En ciertos aspectos, los métodos anteriores comprenden coadministrar el compuesto o composición y un segundo agente. En ciertos aspectos, el compuesto o composición y el segundo agente se administran concomitantemente.

Compuestos antisentido

Los compuestos oligoméricos incluyen, pero no están limitados a, oligonucleótidos, oligonucleósidos, análogos de oligonucleótidos, miméticos de oligonucleótidos, compuestos antisentido, oligonucleótidos antisentido y ARNip. Un compuesto oligomérico puede ser "antisentido" para un ácido nucleico objetivo, lo que significa que es capaz de experimentar hibridación con un ácido nucleico objetivo a través de enlaces de hidrógeno.

En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una secuencia de nucleobases que, cuando se escribe en la dirección 5' a 3', comprende el complemento inverso del segmento objetivo de un ácido nucleico objetivo al que está dirigido. En ciertas de tales realizaciones, un oligonucleótido antisentido tiene una secuencia de nucleobases que, cuando se escribe en la dirección 5' a 3', comprende el complemento inverso del segmento objetivo de un ácido nucleico objetivo al que está dirigido.

En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 10 a 30 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 12 a 30 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 12 a 22 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 14 a 30 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 14 a 20 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 15 a 30 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 15 a 20 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 a 30 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 30 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 21 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 a 20 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 20 a 30 subunidades. En otras palabras, tales compuestos antisentido tienen de 12 a 30 subunidades enlazadas, 14 a 30 subunidades enlazadas, 14 a 20 subunidades, 15 a 30 subunidades, 15 a 20 subunidades, 16 a 30 subunidades, 16 a 20 subunidades, 17 a 30 subunidades, 17 a 20 subunidades, 18 a 30 subunidades, 18 a 20 subunidades, 18 a 21 subunidades, 20 a 30 subunidades o 12 a 22 subunidades enlazadas, respectivamente. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 14 subunidades. En ciertos aspectos de la divulgación, un compuesto antisentido tiene una longitud de 16 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 17 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 18 subunidades. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 19. En ciertas realizaciones, un compuesto antisentido tiene una longitud de 20 subunidades. En otros aspectos de la divulgación, el compuesto antisentido tiene de 8 a 80, 12 a 50, 13 a 30, 13 a 50, 14 a 30, 14 a 50, 15 a 30, 15 a 50, 16 a 30, 16 a 50, 17 a 30, 17 a 50, 18 a 22, 18 a 24, 18 a 30, 18 a 50, 19 a 22, 19 a 30, 19 a 50, o 20 a 30 subunidades enlazadas. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido tienen una longitud de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, u 80 subunidades enlazadas, o un intervalo definido por dos cualquiera de los valores anteriores. En algunas realizaciones, el compuesto antisentido es un oligonucleótido antisentido, y las subunidades enlazadas son nucleótidos.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos antisentido pueden acortarse o truncarse. Por ejemplo, una única subunidad puede eliminarse del extremo 5' (truncamiento 5'), o alternativamente del extremo 3' (truncamiento 3'). Un compuesto antisentido acortado o truncado dirigido a un ácido nucleico de GHR puede tener dos subunidades eliminadas del extremo 5', o alternativamente puede tener dos subunidades eliminadas del extremo 3' del compuesto antisentido. Alternativamente, los nucleósidos eliminados pueden dispersarse por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene un nucleósido eliminado del extremo 5' y un nucleósido eliminado del extremo 3'.

Cuando hay una sola subunidad adicional en un compuesto antisentido alargado, la subunidad adicional puede estar localizada en el extremo 5' o 3' del compuesto antisentido. Cuando hay dos o más subunidades adicionales, las subunidades añadidas pueden estar adyacentes entre sí, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene dos subunidades añadidas al extremo 5' (adición 5'), o alternativamente al extremo 3' (adición 3'), del

compuesto antisentido. Alternativamente, las subunidades añadidas pueden dispersarse por todo el compuesto antisentido, por ejemplo, en un compuesto antisentido que tiene una subunidad añadida al extremo 5' y una subunidad añadida al extremo 3'.

Es posible aumentar o disminuir la longitud de un compuesto antisentido, como un oligonucleótido antisentido, y/o introducir bases malapareadas sin eliminar la actividad. Por ejemplo, en Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992), se probaron una serie de oligonucleótidos antisentido de 13-25 nucleobases de longitud para determinar su capacidad para inducir la escisión de un ARN objetivo en un modelo de inyección de ovocitos. Los oligonucleótidos antisentido de 25 nucleobases de longitud con 8 u 11 bases malapareadas cerca de los extremos de los oligonucleótidos antisentido pudieron dirigir la escisión específica del ARNm objetivo, aunque en menor medida que los oligonucleótidos antisentido que no contenían malapareamientos. De manera similar, se logró la escisión específica del objetivo usando oligonucleótidos antisentido de 13 nucleobases, incluyendo aquellos con 1 o 3 malapareamientos.

Gautschi et al. (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, marzo de 2001) demostraron la capacidad de un oligonucleótido que tiene un 100% de complementariedad con el ARNm de bcl-2 y que tiene 3 malapareamientos con el ARNm de bcl-xL para reducir la expresión de tanto bcl-2 como bcl-xL *in vitro* e *in vivo*. Además, este oligonucleótido demostró una potente actividad antitumoral *in vivo*.

Maher y Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16: 3341-3358, 1988) probaron una serie de oligonucleótidos antisentido en tándem de 14 nucleobases, y oligonucleótidos antisentido de 28 y 42 nucleobases compuestos de la secuencia de dos o tres de los oligonucleótidos antisentido en tándem, respectivamente, para determinar su capacidad para detener la traducción de DHFR humano en un ensayo de reticulocitos de conejo. Cada uno de los tres oligonucleótidos antisentido de 14 nucleobases solo fue capaz de inhibir la traducción, aunque a un nivel más modesto que los oligonucleótidos antisentido de 28 o 42 nucleobases.

Ciertos motivos y mecanismos de compuestos antisentido

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido tienen subunidades modificadas químicamente dispuestas en patrones, o motivos, para conferir a los compuestos antisentido propiedades tales como actividad inhibidora mejorada, afinidad de unión aumentada para un ácido nucleico objetivo, o resistencia a la degradación por nucleasas *in vivo*.

Los compuestos antisentido quiméricos contienen típicamente por lo menos una región modificada para conferir una resistencia a la degradación de nucleasas aumentada, una captación celular aumentada, una afinidad de unión aumentada para el ácido nucleico objetivo y/o una actividad inhibidora aumentada. Una segunda región de un compuesto antisentido quimérico puede conferir otra propiedad deseada, por ejemplo, servir como sustrato para la RNasa H de endonucleasa celular, que escinde la cadena de ARN de un dúplex de ARN:ADN.

La actividad antisentido puede ser el resultado de cualquier mecanismo que implique la hibridación del compuesto antisentido (por ejemplo, oligonucleótido) con un ácido nucleico objetivo, en donde la hibridación finalmente da como resultado un efecto biológico. En ciertas realizaciones, se modula la cantidad y/o actividad del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, se reduce la cantidad y/o actividad del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la hibridación del compuesto antisentido con el ácido nucleico objetivo da como resultado en última instancia la degradación del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la hibridación del compuesto antisentido con el ácido nucleico objetivo no da como resultado la degradación del ácido nucleico objetivo. En ciertas de tales realizaciones, la presencia del compuesto antisentido hibridado con el ácido nucleico objetivo (ocupación) da como resultado una modulación de la actividad antisentido. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que tienen un motivo químico particular o patrón de modificaciones químicas son particularmente adecuados para explotar uno o más mecanismos. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido funcionan mediante más de un mecanismo y/o mediante mecanismos que no se han dilucidado. Por consiguiente, los compuestos antisentido descritos en la presente no están limitados por un mecanismo particular.

Los mecanismos antisentido incluyen, sin limitación, antisentido mediado por RNasa H; mecanismos de ARNi, que utilizan la vía RISC e incluyen, sin limitación, mecanismos de ARNi, ARNm y microARN; y mecanismos basados en la ocupación. Ciertos compuestos antisentido pueden actuar a través de más de uno de estos mecanismos y/o mediante mecanismos adicionales.

Antisentido mediado por RNasa H

En ciertas realizaciones, la actividad antisentido es el resultado por lo menos en parte de la degradación del ARN objetivo por la RNasa H. La RNasa H es una endonucleasa celular que escinde la cadena de ARN de un dúplex ARN:ADN. Se sabe en la técnica que los compuestos antisentido de cadena sencilla que son "similares a ADN" provocan actividad de RNasa H en células de mamífero. Por consiguiente, los compuestos antisentido que comprenden por lo menos una porción de ADN o nucleósidos similares a ADN pueden activar la RNasa H, dando

como resultado la escisión del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que utilizan RNasa H comprenden uno o más nucleósidos modificados. En ciertas realizaciones, tales compuestos antisentido comprenden por lo menos un bloque de 1-8 nucleósidos modificados. En ciertas de tales realizaciones, los nucleósidos modificados no soportan la actividad de RNasa H. En ciertas realizaciones, tales compuestos antisentido son gapmers, como se describe en la presente. En ciertas de tales realizaciones, la separación del gapmer comprende nucleósidos de ADN. En ciertas de tales realizaciones, la separación del gapmer comprende nucleósidos similares a ADN. En ciertas de tales realizaciones, la separación del gapmer comprende nucleósidos de ADN y nucleósidos similares a ADN.

Ciertos compuestos antisentido que tienen un motivo gapmer se consideran compuestos antisentido quiméricos. En un gapmer, una región interna que tiene una pluralidad de nucleótidos que soporta la escisión de RNasaH se coloca entre regiones externas que tienen una pluralidad de nucleótidos que son químicamente distintos de los nucleósidos de la región interna. En el caso de un oligonucleótido antisentido que tiene un motivo gapmer, el segmento de separación generalmente sirve como sustrato para la escisión de la endonucleasa, mientras que los segmentos de ala comprenden nucleósidos modificados. En ciertas realizaciones, las regiones de un gapmer se diferencian por los tipos de fracciones de azúcar que comprenden cada región distinta. Los tipos de fracciones de azúcar que se usan para diferenciar las regiones de un gapmer pueden incluir en algunas realizaciones β -D-ribonucleósidos, β -D-desoxirribonucleósidos, nucleósidos 2' modificados (tales nucleósidos 2' modificados pueden incluir 2'-MOE y 2'-O-CH₃, entre otros), y nucleósidos modificados en el azúcar bicíclicos (tales nucleósidos modificados en el azúcar bicíclicos pueden incluir los que tienen un acetato restringido). En ciertas realizaciones, los nucleósidos en las alas pueden incluir varias fracciones de azúcar modificado incluyendo, por ejemplo, 2'-MOE y fracciones de azúcar bicíclico como etilo restringido o LNA. En ciertas realizaciones, las alas pueden incluir varios fracciones de azúcar modificado y no modificado. En ciertas realizaciones, las alas pueden incluir varias combinaciones de nucleósidos 2'-MOE, fracciones de azúcar bicíclico como nucleósidos de etilo restringidos o nucleósidos de LNA y 2'-desoxinucleósidos.

Cada región distinta puede comprender fracciones de azúcar uniformes, variantes, o fracciones de azúcar alternas. El motivo ala-separación-ala se describe con frecuencia como "X-Y-Z", donde "X" representa la longitud del ala 5', "Y" representa la longitud de la separación, y "Z" representa la longitud del ala 3'. "X" y "Z" pueden comprender fracciones de azúcar uniformes, variantes o alternativas. En ciertas realizaciones, "X" e "Y" pueden incluir uno o más 2'-desoxinucleosidos. "Y" puede comprender 2'-desoxinucleosidos. Como se usa en la presente, un separador descrito como "X-Y-Z" tiene una configuración tal que la separación está colocada inmediatamente adyacente a cada una de las alas 5' y 3'. Por tanto, no hay nucleótidos intermedios entre el ala 5' y la separación, o la separación y el ala 3'. Cualquiera de los compuestos antisentido descritos en la presente puede tener un motivo gapmer. En ciertas realizaciones, "X" y "Z" son iguales; en otras realizaciones son diferentes. En ciertas realizaciones, "Y" tiene entre 8 y 15 nucleósidos. X, Y o Z pueden tener cualquiera de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30 o más nucleósidos.

En ciertas realizaciones, el compuesto antisentido dirigido a un ácido nucleico de GHR tiene un motivo gapmer en el que la separación consiste de 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 nucleósidos enlazados.

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido antisentido tiene un motivo de azúcar descrito por la Fórmula A como sigue: (J)_m-(B)_n-(J)_p-(B)_r-(A)_t-(D)_g-(A)_v-(B)_w-(J)_x-(B)_y-(J)_z en donde

cada A es independientemente un nucleósido 2' sustituido;

cada B es independientemente un nucleósido bicíclico;

cada J es independientemente un nucleósido 2' sustituido o un 2'-desoxinucleósido;

cada D es un 2'-desoxinucleósido;

m es 0-4; n es 0-2; p es 0-2; r es 0-2; t es 0-2; v es 0-2; w es 0-4; x es 0-2; y es 0-2; z es 0-4; g es 6-14;

siempre que:

por lo menos uno de m, n y r sea distinto de 0;

por lo menos uno de w e y sea distinto de 0;

la suma de m, n, p, r y t sea de 2 a 5; y

la suma de v, w, x, y y z sea de 2 a 5.

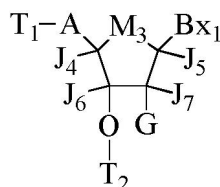
Compuestos de ARNi

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son compuestos de ARN interferente (ARNi), que incluyen compuestos de ARN de cadena doble (también denominados ARN de interferencia corta o ARNip) y compuestos de ARNi de cadena sencilla (o ARNmc). Tales compuestos funcionan por lo menos en parte a través de la vía RISC para degradar y/o secuestrar un ácido nucleico objetivo (por tanto, incluyen compuestos de microARN/que imitan microARN). En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido comprenden modificaciones que los hacen particularmente adecuados para tales mecanismos.

i. compuestos de ARNmc

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido que incluyen aquellos particularmente adecuados para su uso como compuestos de ARNi de cadena sencilla (ARNmc) comprenden un extremo terminal 5' modificado. En ciertas de tales realizaciones, el extremo terminal 5' comprende una fracción de fosfato modificado. En ciertas realizaciones, dicho fosfato modificado se estabiliza (por ejemplo, resistente a la degradación/escisión en comparación con el 5'-fosfato no modificado). En ciertas realizaciones, dichos nucleósidos 5'-terminales estabilizan la fracción de 5'-fósforo. Ciertos nucleósidos 5'-terminales modificados pueden encontrarse en la técnica, por ejemplo en la WO/2011/139702.

En ciertas realizaciones, el nucleósido 5' de un compuesto de ARNmc tiene la Fórmula IIc:



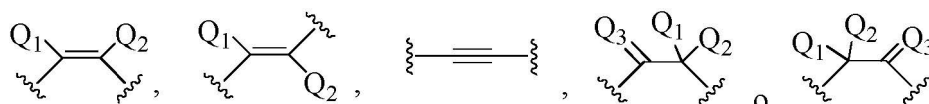
IIc

en donde:

T₁ es una fracción de fósforo opcionalmente protegida;

T₂ es un grupo de enlace internucleosídico que enlaza el compuesto de Fórmula IIc con el compuesto oligomérico;

A tiene una de las fórmulas:



Q₁ y Q₂ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆, alquino C₂-C₆ sustituido o N(R₃)(R₄);

Q₃ es O, S, N(R₅) o C(R₆)(R₇);

cada R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido o alcoxi C₁-C₆;

M₃ es O, S, NR₁₄, C(R₁₅)(R₁₆), C(R₁₅)(R₁₆)C(R₁₇)(R₁₈), C(R₁₅)=C(R₁₇), OC(R₁₅)(R₁₆) u OC(R₁₅)(BX₂);

R₁₄ es H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₁₅, R₁₆, R₁₇ y R₁₈ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

BX₁ es una fracción de base heterocíclica;

o si BX₂ está presente, entonces BX₂ es una fracción de base heterocíclica y BX₁ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆,

alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

5 J₄, J₅, J₆ y J₇ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

10 o J₄ forma un puente con uno de J₅ o J₇ en donde dicho puente comprende de 1 a 3 grupos birradicales enlazados seleccionados de O, S, NR₁₉, C(R₂₀)(R₂₁), C(R₂₀)=C(R₂₁), C[=C(R₂₀)(R₂₁)] y C(=O) y los otros dos de J₅, J₆ y J₇ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

15 cada R₁₉, R₂₀ y R₂₁ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

G es H, OH, halógeno u O-[C(R₈)(R₉)]_n[(C=O)_m-X₁]-Z;

20 cada R₈ y R₉ es, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

X₁ es O, S o N(E₁);

25 Z es H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆, alquino C₂-C₆ sustituido o N(E₂)(E₃);

E₁, E₂ y E₃ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

n es de 1 a aproximadamente 6;

30 m es 0 o 1;

j es 0 o 1;

35 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de halógeno, DO₁, N(J₁)(J₂), =NJ₁, SJ₁, N₃, CN, OC(=X₂)J₁, OC(=X₂)N(J₁)(J₂) y C(=X₂)N(J₁)(J₂);

X₂ es O, S o NJ₃;

40 cada J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆;

cuando j es 1, entonces Z es distinto de halógeno o N(E₂)(E₃); y

45 en donde dicho compuesto oligomérico comprende de 8 a 40 subunidades monoméricas y puede hibridar con por lo menos una porción de un ácido nucleico objetivo.

En ciertas realizaciones, M₃ es O, CH = CH, OCH₂ u OC(H)(Bx₂). En ciertas realizaciones, M₃ es O.

50 En ciertas realizaciones, J₄, J₅, J₆ y J₇ son cada uno H. En ciertas realizaciones, J₄ forma un puente con uno de J₅ o J₇.

En ciertas realizaciones, A tiene una de las fórmulas:

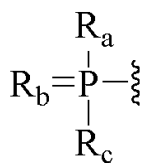


en donde:

60 Q₁ y Q₂ son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido. En ciertas realizaciones, Q₁ y Q₂ son cada uno H. En ciertas realizaciones, Q₁ y Q₂ son cada uno, independientemente, H o halógeno. En ciertas realizaciones, Q₁ y Q₂ es H y el otro de Q₁ y Q₂ es F, CH₃ u OCH₃.

En ciertas realizaciones, T₁ tiene la fórmula:

65



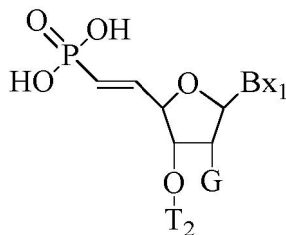
en donde:

R_a y R_c son cada uno, independientemente hidroxilo, protegido, protegido tiol, alquilo C_1 - C_6 , alquilo C_1 - C_6 sustituido, alcoxi C_1 - C_6 , alcoxi C_1 - C sustituido, amino protegido o amino sustituido; y

R_b es O o S. En ciertas realizaciones, R_b es O y R_a y R_c son cada uno, independientemente, OCH_3 , OCH_2CH_3 o $CH(CH_3)_2$.

En ciertas realizaciones, G es halógeno, OCH_3 , OCH_2F , $OCHF_2$, OCF_3 , OCH_2CH_3 , $O(CH_2)_2F$, OCH_2CHF_2 , OCH_2CF_3 , $OCH_2-CH=CH_2$, $O(CH_2)_2-OCH_3$, $O(CH_2)_2-SCH_3$, $O(CH_2)_2-OCF_3$, $O(CH_2)_3-N(R_{10})(R_{11})$, $O(CH_2)_2-ON(R_{10})(R_{11})$, $O(CH_2)_2-O(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$, $OCH_2C(=O)-N(R_{10})(R_{11})$, $OCH_2C(=O)-N(R_{12})-(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$ o $O(CH_2)_2-N(R_{12})-C(=NR_{13})[N(R_{10})(R_{11})]$ en donde R_{10} , R_{11} , R_{12} y R_{13} son cada uno, independientemente, H o alquilo C_1 - C_6 . En ciertas realizaciones, G es halógeno, OCH_3 , OCF_3 , OCH_2CH_3 , OCH_2CF_3 , $OCH_2-CH=CH_2$, $O(CH_2)_2-OCH_3$, $O(CH_2)_2-O(CH_2)_2-N(CH_3)_2$, $OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$, $OCH_2C(=O)-N(H)-(CH_2)_2-N(CH_3)_2$ o $OCH_2-N(H)-C(=NH)NH_2$. En ciertas realizaciones, G es F, OCH_3 u $O(CH_2)_2-OCH_3$. En ciertas realizaciones, G es $O(CH_2)_2-OCH_3$.

En ciertas realizaciones, el nucleósido 5'-terminal tiene la Fórmula IIe:



IIe

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido, incluyendo los particularmente adecuados para ARNm, comprenden uno o más tipos de fracciones de azúcar modificado y/o fracciones de azúcar de origen natural dispuestos a lo largo de un oligonucleótido o región del mismo en un patrón definido o motivo de modificación de azúcar. Tales motivos pueden incluir cualquiera de las modificaciones de azúcar analizadas en la presente y/u otras modificaciones de azúcar conocidas.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden o consisten de una región que tiene modificaciones de azúcar uniformes. En ciertas de tales realizaciones, cada nucleósido de la región comprende la misma modificación de azúcar tipo ARN. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido 2'-F. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido 2'-OMe. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido 2'-MOE. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido cEt. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región es un nucleósido LNA. En ciertas realizaciones, la región uniforme constituye todo o esencialmente todo el oligonucleótido. En ciertas realizaciones, la región constituye el oligonucleótido completo, excepto los nucleósidos terminales 1-4.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una o más regiones de modificaciones de azúcar alternas, en donde los nucleósidos alternan entre nucleótidos que tienen una modificación de azúcar de un primer tipo y nucleótidos que tienen una modificación de azúcar de un segundo tipo. En ciertas realizaciones, los nucleósidos de ambos tipos son nucleósidos de tipo ARN. En ciertas realizaciones, los nucleósidos alternos se seleccionan de: 2'-OMe, 2'-F, 2'-MOE, LNA y cEt. En ciertas realizaciones, las modificaciones alternas son 2'-F y 2'-OMe. Dichas regiones pueden ser contiguas o pueden estar interrumpidas por nucleósidos modificados de manera diferente o nucleósidos conjugados.

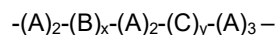
En ciertas realizaciones, la región alterna de modificaciones alternas consiste cada una de un único nucleósido (es decir, el patrón es $(AB)_x A_y$ donde A es un nucleósido que tiene una modificación de azúcar de un primer tipo y B es un nucleósido que tiene una modificación de azúcar de un segundo tipo; x es 1-20 e y es 0 o 1). En ciertas realizaciones, una o más regiones alternas en un motivo alterno incluyen más de un nucleósido de un tipo.

Por ejemplo, los oligonucleótidos pueden incluir una o más regiones de cualquiera de los siguientes motivos de nucleósidos:

- 5 AABBA;
ABBAB;
AABAAB;
ABBABAAB;
ABABAA;
AABABAB;
10 ABABAA;
ABBAABBABABAA;
BABBAABBABABAA; o
ABABBAABBABABAA;
15 en donde A es un nucleósido de un primer tipo y B es un nucleósido de un segundo tipo. En ciertas realizaciones, A y B se seleccionan cada uno de 2'-F, 2'-OMe, BNA y MOE.

En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos que tienen dicho motivo alterno también comprenden un nucleósido 5' terminal modificado, como los de fórmula IIc o IIe.

- 20 En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región que tiene un motivo 2-2-3. Dichas regiones comprenden el siguiente motivo:



- 25 en donde: A es un primer tipo de nucleósido modificado;
B y C son nucleósidos que se modifican de manera diferente que A, sin embargo, B y C pueden tener las mismas o diferentes modificaciones entre sí;
30 x e y son de 1 a 15.

En ciertas realizaciones, A es un nucleósido modificado 2'-OMe. En ciertas realizaciones, B y C son ambos nucleósidos modificados 2'-F. En ciertas realizaciones, A es un nucleósido modificado 2'-OMe y B y C son ambos nucleósidos modificados 2'-F.

- 35 En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos tienen el siguiente motivo de azúcar:

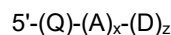


- 40 en donde:
Q es un nucleósido que comprende una fracción de fosfato estabilizado. En ciertas realizaciones, Q es un nucleósido que tiene la Fórmula IIc o IIe;

- 45 A es un primer tipo de nucleósido modificado;
B es un segundo tipo de nucleósido modificado;
50 D es un nucleósido modificado que comprende una modificación diferente del nucleósido adyacente a él. Por tanto, si y es 0, entonces D debe modificarse de manera diferente que B y si y es 1, entonces D debe modificarse de manera diferente que A. En ciertas realizaciones, D difiere de A y B.

- X es 5-15;
55 Y es 0 o 1;
Z es 0-4.

- 60 En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos tienen el siguiente motivo de azúcar:



en donde:

- 65 Q es un nucleósido que comprende una fracción de fosfato estabilizado. En ciertas realizaciones, Q es

un nucleósido que tiene la Fórmula IIc o IIe;

A es un primer tipo de nucleósido modificado;

5 D es un nucleósido modificado que comprende una modificación diferente de A.

X es 11-30;

10 Z es 0-4.

En ciertas realizaciones, A, B, C y D en los motivos anteriores se seleccionan de: 2'-OMe, 2'-F, 2'-MOE, LNA y cEt. En ciertas realizaciones, D representa nucleósidos terminales. En ciertas realizaciones, tales nucleósidos terminales no están diseñados para hibridar con el ácido nucleico objetivo (aunque uno o más podrían hibridar por casualidad). En ciertas realizaciones, la nucleobase de cada nucleósido D es adenina, independientemente de la identidad de la nucleobase en la posición correspondiente del ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la nucleobase de cada nucleósido D es timina.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido, incluyendo los particularmente adecuados para su uso como ARNmc, comprenden enlaces internucleosídicos modificados dispuestos a lo largo del oligonucleótido o región del mismo en un patrón definido o motivo de enlace internucleósido modificado. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región que tiene un motivo de enlace internucleósido alterno. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos comprenden una región de enlaces internucleosídicos modificados uniformemente. En ciertas de tales realizaciones, el oligonucleótido comprende una región que está enlazada uniformemente por enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido está enlazado uniformemente por enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico del oligonucleótido se selecciona de fosfodiéster y fosforotioato y por lo menos un enlace internucleósido es fosforotioato.

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 8 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos 10 enlaces internucleosídicos de fosforotioato. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 6 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 8 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 10 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido comprende por lo menos un bloque de por lo menos 12 enlaces internucleosídicos de fosforotioato consecutivos. En ciertas de tales realizaciones, por lo menos uno de dichos bloques está localizado en el extremo 3' del oligonucleótido. En ciertas de tales realizaciones, por lo menos uno de tales bloques está localizado dentro de 3 nucleósidos del extremo 3' del oligonucleótido.

Los oligonucleótidos que tienen cualquiera de los varios motivos de azúcar descritos en la presente, pueden tener cualquier motivo de enlace. Por ejemplo, los oligonucleótidos, que incluyen pero no se limitan a los descritos anteriormente, pueden tener un motivo de enlace seleccionado de la tabla no limitativa siguiente:

45

enlace más 5'	Región central	Región 3'
PS	PO/PS alterno	6 PS
PS	PO/PS alterno	7 PS
PS	PO/PS alterno	8 PS

50

55

ii. compuestos de ARNip

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido son compuestos de ARNi de cadena doble (ARNip). En tales realizaciones, una o ambas cadenas pueden comprender cualquier motivo de modificación descrito anteriormente para ARNmc. En ciertas realizaciones, los compuestos de ARNmc pueden ser ARN no modificado. En ciertas realizaciones, los compuestos de ARNip pueden comprender nucleósidos de ARN no modificados, pero enlaces internucleosídicos modificados.

60

Varias realizaciones se refieren a composiciones de cadena doble en las que cada cadena comprende un motivo definido por la localización de uno o más nucleósidos modificados o no modificados. En ciertas realizaciones,

65

se proporcionan composiciones que comprenden un primer y un segundo compuestos oligoméricos que hibridan total o por lo menos parcialmente para formar una región dúplex y que además comprenden una región que es complementaria e hibrida con un objetivo de ácido nucleico. Es adecuado que dicha composición comprenda un primer compuesto oligomérico que es una cadena antisentido que tiene complementariedad total o parcial con un objetivo de ácido nucleico y un segundo compuesto oligomérico que es una cadena de sentido que tiene una o más regiones de complementariedad y que forma por lo menos una región dúplex con el primer compuesto oligomérico.

Las composiciones de varias realizaciones modulan la expresión génica hibridando con un objetivo de ácido nucleico que da como resultado la pérdida de su función normal. En algunas realizaciones, el ácido nucleico objetivo es GHR. En cierta realización, la degradación del GHR objetivo se ve facilitada por un complejo RISC activado que se forma con las composiciones de la invención.

Varias realizaciones están dirigidas a composiciones de cadena doble en las que una de las cadenas es útil, por ejemplo, para influir en la carga preferencial de la cadena opuesta en el complejo RISC (o escisión). Las composiciones son útiles para dirigir moléculas de ácidos nucleicos seleccionadas y modular la expresión de uno o más genes. En algunas realizaciones, las composiciones de la presente invención hibridan con una porción de un ARN objetivo dando como resultado la pérdida de la función normal del ARN objetivo.

Ciertas realizaciones se dirigen a composiciones de cadena doble en las que ambas cadenas comprenden un motivo de hemímero, un motivo completamente modificado, un motivo modificado posicionalmente o un motivo alterno. Cada cadena de las composiciones de la presente invención puede modificarse para cumplir una función particular en, por ejemplo, la vía de ARNip. Usar un motivo diferente en cada cadena o el mismo motivo con diferentes modificaciones químicas en cada cadena permite dirigir la cadena antisentido para el complejo RISC a la vez que inhibe la incorporación de la cadena de sentido. Dentro de este modelo, cada hebra puede modificarse independientemente de modo que se mejore para su función particular. La cadena antisentido puede modificarse en el extremo 5' para mejorar su papel en una región del RISC, mientras que el extremo 3' puede modificarse diferencialmente para mejorar su papel en una región diferente del RISC.

Las moléculas de oligonucleótidos de cadena doble pueden ser una molécula de polinucleótido de cadena doble que comprende regiones sentido y antisentido autocomplementarias, en donde la región antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma y la región de sentido tiene una secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma. Las moléculas de oligonucleótidos de cadena doble pueden ensamblarse a partir de dos oligonucleótidos separados, donde una cadena es la cadena sentido y la otra es la cadena antisentido, en donde las cadenas antisentido y sentido son autocomplementarias (es decir, cada cadena comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en la otra cadena; como donde la cadena antisentido y la cadena sentido forman una estructura dúplex o de cadena doble, por ejemplo en donde la región de cadena doble es de aproximadamente 15 a aproximadamente 30, por ejemplo, aproximadamente 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 pares de bases; la cadena antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma y la cadena de sentido comprende la secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma (por ejemplo, de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 o más nucleótidos de la molécula de oligonucleótidos de cadena doble son complementarios al ácido nucleico objetivo o una porción del mismo). Alternativamente, el oligonucleótido de cadena doble se ensambla a partir de un único oligonucleótido, donde las regiones sentido y antisentido autocomplementarias del ARNip están unidas por medio de un conector(es) a base de ácido nucleico o a base de ácido no nucleico.

El oligonucleótido de cadena doble puede ser un polinucleótido con una estructura secundaria dúplex, dúplex asimétrico, horquilla u horquilla asimétrica, que tiene regiones sentido y antisentido autocomplementarias, en donde la región antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo separada o una porción de la misma y la región de sentido tiene una secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma. El oligonucleótido de cadena doble puede ser un polinucleótido circular de cadena sencilla que tiene dos o más estructuras de giro y un tallo que comprende regiones sentido y antisentido autocomplementarias, en donde la región antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos en una molécula de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma y la región de sentido tiene una secuencia de nucleótidos correspondiente a la secuencia de ácido nucleico objetivo o una porción de la misma, y en donde el polinucleótido circular puede procesarse in vivo o in vitro para generar una molécula de ARNip activa capaz de mediar ARNi.

En ciertas realizaciones, el oligonucleótido de cadena doble comprende secuencias o regiones de sentido y antisentido separadas, en donde las regiones de sentido y antisentido están enlazadas covalentemente mediante moléculas conectoras nucleotídicas o no nucleotídicas como se conoce en la técnica, o están enlazadas alternativamente de manera no covalente mediante interacciones iónicas, enlaces de hidrógeno, interacciones de

van der waals, interacciones hidrófobas y/o interacciones de apilamiento. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido de cadena doble comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria a la secuencia de nucleótidos de un gen objetivo. En otra realización, el oligonucleótido de cadena doble interactúa con la secuencia de nucleótidos de un gen objetivo de una manera que provoca la inhibición de la expresión del gen objetivo.

Como se usa en la presente, los oligonucleótidos de cadena doble no necesitan estar limitados a aquellas moléculas que contienen solo ARN, sino que además comprenden nucleótidos y no nucleótidos modificados químicamente. En ciertas realizaciones, las moléculas de ácido nucleico interferente cortas carecen de nucleótidos que contienen 2'-hidroxi (2'-OH). En ciertas realizaciones, los ácidos nucleicos interferentes cortos opcionalmente no incluyen ningún ribonucleótido (por ejemplo, nucleótidos que tienen un grupo 2'-OH). Sin embargo, tales oligonucleótidos de cadena doble que no requieren la presencia de ribonucleótidos dentro de la molécula para soportar ARNi pueden tener un conector o conectores unidos u otros grupos, fracciones o cadenas unidos o asociados que contienen uno o más nucleótidos con grupos 2'-OH. Opcionalmente, los oligonucleótidos de cadena doble pueden comprender ribonucleótidos en aproximadamente un 5, 10, 20, 30, 40 o 50% de las posiciones de nucleótidos. Como se usa en la presente, se pretende que el término ARNip sea equivalente a otros términos usados para describir moléculas de ácido nucleico que son capaces de mediar la secuencia de ARNi específica, por ejemplo ARN interferente corto (ARNip), ARN de cadena doble (ARNdc), micro-RNA (ARNmi), ARN de horquilla corta (ARNhc), oligonucleótido de interferencia corta, ácido nucleico de interferencia corta, oligonucleótido modificado de interferencia corta, ARNip modificado químicamente, ARN de silenciamiento génico postranscripcional (ARNptgs) y otros. Además, como se usa en la presente, se pretende que el término ARNi sea equivalente a otros términos usados para describir la interferencia de ARN específica de la secuencia, como el silenciamiento génico postranscripcional, la inhibición traduccional o la epigenética. Por ejemplo, los oligonucleótidos de cadena doble pueden usarse para silenciar epigenéticamente genes tanto a nivel postranscripcional como a nivel pretranscripcional. En un ejemplo no limitativo, la regulación epigenética de la expresión génica por las moléculas de ARNip de la invención puede resultar de la modificación mediada por ARNip de la estructura de la cromatina o el patrón de metilación para alterar la expresión génica (ver, por ejemplo, Verdel et al., 2004, Science, 303, 672-676; Pal-Bhadra et al., 2004, Science, 303, 669-672; Allshire, 2002, Science, 297, 1818-1819; Volpe et al., 2002, Science, 297, 1833-1837; Jenuwein, 2002, Science, 297, 2215-2218; y Hall et al., 2002, Science, 297, 2232-2237).

Se contempla que los compuestos y las composiciones de varias realizaciones proporcionadas en la presente pueden dirigirse a GHR mediante un silenciamiento génico mediado por ARNdc o un mecanismo de ARNi, incluyendo, por ejemplo, moléculas efectoras de ARN de cadena doble en forma de "horquilla" o giro de tallo en las que una única cadena de ARN con las secuencias autocomplementarias pueden asumir una conformación de cadena doble o moléculas efectoras de ARNdc dúplex que comprenden dos cadenas separadas de ARN. En diversas realizaciones, el ARNdc consiste completamente de ribonucleótidos o consiste de una mezcla de ribonucleótidos y desoxinucleótidos, como los híbridos de ARN/ADN divulgados, por ejemplo, por la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000, o la N° de Serie de Estados Unidos 60/130.377, presentada el 21 de abril de 1999. El ARNdc o la molécula efectora de ARNdc puede ser una sola molécula con una región de autocomplementariedad de tal manera que los nucleótidos en un segmento de la base de la molécula se emparejen con los nucleótidos en otro segmento de la molécula. En diversas realizaciones, un ARNdc que consiste de una única molécula consiste completamente de ribonucleótidos o incluye una región de ribonucleótidos que es complementaria a una región de desoxirribonucleótidos. Alternativamente, el ARNdc puede incluir dos cadenas diferentes que tienen una región de complementariedad entre ellas.

En varias realizaciones, ambas cadenas consisten completamente de ribonucleótidos, una cadena consiste completamente de ribonucleótidos y una cadena consiste completamente de desoxirribonucleótidos, o una o ambas cadenas contienen una mezcla de ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos. En ciertas realizaciones, las regiones de complementariedad son por lo menos un 70, 80, 90, 95, 98 o 100% complementarias entre sí y con una secuencia de ácido nucleico objetivo. En ciertas realizaciones, la región del ARNdc que está presente en una conformación de cadena doble incluye por lo menos 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 50, 75, 100, 200, 500, 1000, 2000 o 5000 nucleótidos o incluye todos los nucleótidos en un ADN u otra secuencia de ácido nucleico objetivo que se representa en el ARNdc. En algunas realizaciones, el ARNdc no contiene ninguna región de cadena sencilla, como los extremos de cadena sencilla, o el ARNdc es una horquilla. En otras realizaciones, el ARNdc tiene una o más regiones o salientes de cadena sencilla. En ciertas realizaciones, los híbridos de ARN/ADN incluyen una cadena o región de ADN que es una cadena o región antisentido (por ejemplo, tiene por lo menos un 70, 80, 90, 95, 98 o 100% de complementariedad con un ácido nucleico objetivo) y un ARN cadena o región que es una cadena o región sentido (por ejemplo, tiene por lo menos un 70, 80, 90, 95, 98 o 100% de identidad con un ácido nucleico objetivo), y viceversa.

En varias realizaciones, el híbrido de ARN/ADN se elabora in vitro usando métodos sintéticos químicos o enzimáticos como los descritos en la presente o los descritos en la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000, o en el N° de Serie de Estados Unidos 60/130.377, presentada el 21 de abril de 1999. En otras realizaciones, una cadena de ADN sintetizada in vitro se compleja con una cadena de ARN elaborada in vivo o in vitro antes, después o concurrentemente con la transformación de la cadena de ADN en la célula. En otras realizaciones más, el ARNdc es un ácido nucleico circular único que contiene una región sentido y antisentido, o el ARNdc incluye un ácido nucleico

circular y un segundo ácido nucleico circular o un ácido nucleico lineal (ver, por ejemplo, WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000, o la N° de Serie de Estados Unidos 60/130.377, presentada el 21 de abril de 1999). Los ácidos nucleicos circulares ejemplares incluyen estructuras lariat en las que el grupo 5' fosforilo libre de un nucleótido se enlaza al grupo 2' hidroxilo de otro nucleótido de una manera de giro hacia atrás.

En otras realizaciones, el ARNdc incluye uno o más nucleótidos modificados en los que la posición 2' en el azúcar contiene un halógeno (como un grupo flúor) o contiene un grupo alcoxi (como un grupo metoxi) que aumenta la vida media del ARNdc in vitro o in vivo en comparación con el ARNdc correspondiente en el que la posición 2' correspondiente contiene un hidrógeno o un grupo hidroxilo. En otras realizaciones más, el ARNdc incluye uno o más enlaces entre nucleótidos adyacentes distintos de un enlace fosfodiéster natural. Los ejemplos de tales enlaces incluyen enlaces de fosforamida, fosforotioato y fosforoditioato. Los ARNdc también pueden ser moléculas de ácido nucleico químicamente modificadas como se enseña en la Patente de Estados Unidos N° 6.673.661. En otras realizaciones, el ARNdc contiene una o dos cadenas tapadas, como se divulga, por ejemplo, en la WO 00/63364, presentada el 19 de abril de 2000, o la N° de Serie de Estados Unidos 60/130,377, presentada el 21 de abril de 1999.

En otras realizaciones, el ARNdc puede ser cualquiera de las moléculas de ARNdc por lo menos parcialmente divulgadas en la WO 00/63364, así como cualquiera de las moléculas de ARNdc descritas en la solicitud Provisional de Estados Unidos 60/399,998; y la Solicitud Provisional de Estados Unidos 60/419,532, y el PCT/US2003/033466. Cualquiera de los ARNdc puede expresarse in vitro o in vivo usando los métodos descritos en la presente o métodos estándar, como los descritos en la WO 00/63364.

Ocupación

En ciertas realizaciones, no se espera que los compuestos antisentido den lugar a la escisión o al ácido nucleico objetivo a través de RNasa H o que den como resultado la escisión o secuestro a través de la vía RISC. En ciertas de tales realizaciones, la actividad antisentido puede ser el resultado de la ocupación, en donde la presencia del compuesto antisentido hibridado interrumpe la actividad del ácido nucleico objetivo. En ciertas de tales realizaciones, el compuesto antisentido puede modificarse uniformemente o puede comprender una mezcla de modificaciones y/o nucleósidos modificados y no modificados.

Ácidos nucleicos objetivo, regiones objetivo y secuencias de nucleótidos

Las secuencias de nucleótidos que codifican el receptor de la hormona del crecimiento (GHR) al que se pueden dirigir los compuestos proporcionados en la presente incluyen, sin limitación, las siguientes: N° de registro GENBANK NM_000163.4 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 1), N° de registro GENBANK NT_006576.16 truncada de los nucleótidos 42411001 a 42714000 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 2), N° de registro GENBANK X06562.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 3), N° de registro GENBANK DR006395.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 4), N° de registro GENBANK DB052048.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 5), N° de registro GENBANK AF230800.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 6), el complemento del N° de registro GENBANK AA398260.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 7), N° de registro GENBANK BC136496.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 8), N° de registro GENBANK NM_001242399.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 9), N° de registro GENBANK NM_001242400.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 10), N° de registro GENBANK NM_001242401.3 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 11), N° de registro GENBANK NM_001242402.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 12), N° de registro GENBANK NM_001242403.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 13), N° de registro GENBANK NM_001242404.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 14), N° de registro GENBANK NM_001242405.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 15), N° de registro GENBANK NM_001242406.2 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 16), N° de registro GENBANK NM_001242460.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 17), N° de registro GENBANK NM_001242461.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 18), N° de registro GENBANK NM_001242462.1 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 19), o N° de registro GENBANK NW_001120958.1 truncada de los nucleótidos 4410000 a 4720000 (incorporada en la presente como SEQ ID NO: 2296).

Hibridación

En algunas realizaciones, la hibridación se produce entre un compuesto antisentido divulgado en la presente y un ácido nucleico de GHR. El mecanismo más común de hibridación implica el enlace de hidrógeno (por ejemplo, enlace de hidrógeno de Watson-Crick, Hoogsteen o Hoogsteen invertido) entre las nucleobases complementarias de las moléculas de ácido nucleico.

La hibridación puede producirse en condiciones variables. Las condiciones estrictas dependen de la secuencia y están determinadas por la naturaleza y la composición de las moléculas de ácidos nucleicos que se hibridarán.

Los métodos para determinar si una secuencia puede hibridar específicamente con un ácido nucleico objetivo son bien conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en la presente pueden hibridar específicamente con un ácido nucleico de GHR.

5 Complementariedad

Un compuesto antisentido y un ácido nucleico objetivo son complementarios entre sí cuando un número suficiente de nucleobases del compuesto antisentido puede enlazarse por hidrógeno con las nucleobases correspondientes del ácido nucleico objetivo, de tal manera que se produzca un efecto deseado (por ejemplo, inhibición antisentido de un ácido nucleico objetivo, como un ácido nucleico de GHR).

Las nucleobases no complementarias entre un compuesto antisentido y un ácido nucleico de GHR pueden tolerarse siempre que el compuesto antisentido siga siendo capaz de hibridar específicamente con un ácido nucleico objetivo. Además, un compuesto antisentido puede hibridar sobre uno o más segmentos de un ácido nucleico de GHR de tal manera que los segmentos intermedios o adyacentes no estén involucrados en el evento de hibridación (por ejemplo, una estructura de giro, malapareamiento o estructura de horquilla).

En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido proporcionados en la presente, o una porción especificada de los mismos, son, o son por lo menos, un 70%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% complementarios con un ácido nucleico de GHR, una región objetivo, un segmento objetivo o una porción específica del mismo. El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con un ácido nucleico objetivo puede determinarse usando métodos rutinarios.

Por ejemplo, un compuesto antisentido en el que 18 de las 20 nucleobases del compuesto antisentido son complementarias con una región objetivo y, por lo tanto, se hibridarían específicamente, representarían un 90 por ciento de complementariedad. En este ejemplo, las nucleobases no complementarias restantes pueden estar agrupadas o intercaladas con nucleobases complementarias y no necesitan ser contiguas entre sí o con las nucleobases complementarias. Como tal, un compuesto antisentido que tiene 18 nucleobases de longitud que tiene cuatro nucleobases no complementarias que están flanqueadas por dos regiones de complementariedad completa con el ácido nucleico objetivo tendría un 77,8% de complementariedad global con el ácido nucleico objetivo. El porcentaje de complementariedad de un compuesto antisentido con una región de un ácido nucleico objetivo puede determinarse rutinariamente usando programas BLAST (herramientas básicas de búsqueda de alineación local) y programas PowerBLAST conocidos en la técnica (Altschul et al., J. Mol. Biol., 1990, 215, 403 410; Zhang y Madden, Genome Res., 1997, 7, 649 656). El porcentaje de homología, identidad de secuencia o complementariedad puede determinarse, por ejemplo, mediante el programa Gap (Wisconsin Sequence Analysis Package, Versión 8 para Unix, Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.), usando la configuración predeterminada, que usa algoritmo de Smith y Waterman (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482 489).

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en la presente, o porciones especificadas de los mismos, son completamente complementarios (es decir, 100% complementarios) con un ácido nucleico objetivo, o una porción especificada del mismo. Por ejemplo, un compuesto antisentido puede ser completamente complementario a un ácido nucleico de GHR, o una región objetivo, o un segmento objetivo o secuencia objetivo del mismo. Como se usa en la presente, "completamente complementario" significa que cada nucleobase de un compuesto antisentido es capaz de emparejar bases precisas con las nucleobases correspondientes de un ácido nucleico objetivo. Por ejemplo, un compuesto antisentido de 20 nucleobases es completamente complementario con una secuencia objetivo que tiene una longitud de 400 nucleobases, siempre que haya una porción correspondiente de 20 nucleobase del ácido nucleico objetivo que sea completamente complementaria con el compuesto antisentido. Completamente complementario también puede usarse en referencia a una porción especificada del primer y/o el segundo ácido nucleico. Por ejemplo, una porción de 20 nucleobases de un compuesto antisentido de 30 nucleobase puede ser "completamente complementaria" con una secuencia objetivo que tiene una longitud de 400 nucleobases. La porción de 20 nucleobases del oligonucleótido de 30 nucleobase es completamente complementaria con la secuencia objetivo si la secuencia objetivo tiene una porción correspondiente de 20 nucleobase en donde cada nucleobase es complementaria con la porción de 20 nucleobase del compuesto antisentido. Al mismo tiempo, el compuesto antisentido de 30 nucleobases completo puede o no ser completamente complementario con la secuencia objetivo, dependiendo de si las 10 nucleobases restantes del compuesto antisentido también son complementarias con la secuencia objetivo.

La localización de una nucleobase no complementaria puede estar en el extremo 5' o el extremo 3' del compuesto antisentido. Alternativamente, la nucleobase o nucleobases no complementarias pueden estar en una posición interna del compuesto antisentido. Cuando están presentes dos o más nucleobases no complementarias, pueden ser contiguas (es decir, estar enlazadas) o no contiguas. En una realización, una nucleobase no complementaria está localizada en el segmento del ala de un oligonucleótido antisentido gapper.

En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido que tienen, o tienen hasta 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 nucleobases de longitud no comprenden más de 4, no más de 3, no más de 2, o no más de 1

nucleobases no complementarias con respecto a un ácido nucleico objetivo, como un ácido nucleico de GHR, o una porción especificada del mismo.

En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido que tienen, o tienen hasta 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleobases de longitud comprenden no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 nucleobases no complementarias con respecto a un ácido nucleico objetivo, como un ácido nucleico de GHR, o una porción especificada del mismo.

Los compuestos antisentido proporcionados también incluyen aquellos que son complementarios a una porción de un ácido nucleico objetivo. Como se usa en la presente, "porción" se refiere a un número definido de nucleobases contiguas (es decir, enlazadas) dentro de una región o segmento de un ácido nucleico objetivo. Una "porción" también puede referirse a un número definido de nucleobases contiguas de un compuesto antisentido. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 8 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 9 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 10 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 11 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 12 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 13 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 14 nucleobases de un segmento objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido son complementarios con por lo menos una porción de 15 nucleobases de un segmento objetivo. También se contemplan compuestos antisentido que son complementarios con por lo menos 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más porciones de nucleobase de un segmento objetivo, o un intervalo definido por dos cualquiera de estos valores.

Identidad

Los compuestos antisentido proporcionados en la presente también pueden tener un porcentaje de identidad definido para una secuencia de nucleótidos particular, SEQ ID NO, o compuesto representado por un número Isis específico, o una porción del mismo. Como se usa en la presente, un compuesto antisentido es idéntico a la secuencia divulgada en la presente si tiene la misma capacidad de emparejamiento de nucleobases. Por ejemplo, un ARN que contiene uracilo en lugar de timidina en una secuencia de ADN divulgada se consideraría idéntico a la secuencia de ADN ya que tanto el uracilo como la timidina se emparejan con la adenina. También se contemplan versiones acortadas y alargadas de los compuestos antisentido descritos en la presente, así como los compuestos que tienen bases no idénticas con respecto a los compuestos antisentido proporcionados en la presente. Las bases no idénticas pueden ser adyacentes entre sí o estar dispersas por todo el compuesto antisentido. El porcentaje de identidad de un compuesto antisentido se calcula de acuerdo con el número de bases que tienen un emparejamiento de bases idéntico con respecto a la secuencia con la que se compara.

En ciertos aspectos de la divulgación, los compuestos antisentido, o porciones de los mismos, son, o son por lo menos, un 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o 100% idénticos a uno o más de los compuestos antisentido o SEQ ID NO, o una porción de los mismos, divulgados en la presente.

En ciertas realizaciones, se compara una porción del compuesto antisentido con una porción de igual longitud del ácido nucleico objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, se compara una porción de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleobases con una porción de igual longitud del ácido nucleico objetivo.

En ciertas realizaciones, se compara una porción del oligonucleótido antisentido con una porción de igual longitud del ácido nucleico objetivo. En ciertos aspectos de la divulgación, se compara una porción de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleobases con una porción de igual longitud del ácido nucleico objetivo.

Modificaciones

Un nucleósido es una combinación de azúcar-base. La porción de nucleobase (también conocida como base) del nucleósido es normalmente una fracción de base heterocíclica. Los nucleótidos son nucleósidos que además incluyen un grupo fosfato enlazado covalentemente con la porción de azúcar del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un azúcar pentofuranosilo, el grupo fosfato puede unirse a la fracción hidroxilo 2', 3' o 5' del azúcar. Los oligonucleótidos se forman a través del enlace covalente de nucleósidos adyacentes entre sí, para formar un oligonucleótido polimérico lineal. Dentro de la estructura del oligonucleótido, los grupos fosfato son referidos comúnmente como formadores de los enlaces internucleosídicos del oligonucleótido.

Las modificaciones a los compuestos antisentido abarcan sustituciones o cambios en los enlaces internucleosídicos, fracciones de azúcar o nucleobases. A menudo se prefieren los compuestos antisentido modificados a las formas nativas debido a propiedades deseables como, por ejemplo, captación celular mejorada, afinidad mejorada para el objetivo de ácido nucleico, estabilidad aumentada en presencia de nucleasas o actividad inhibidora mejorada.

Los nucleósidos modificados químicamente también pueden emplearse para aumentar la afinidad de unión de un oligonucleótido antisentido acortado o truncado para su ácido nucleico objetivo. En consecuencia, a menudo pueden obtenerse resultados comparables con compuestos antisentido más cortos que tienen tales nucleósidos modificados químicamente.

Enlaces internucleosídicos modificados

El enlace internucleósido de origen natural del ARN y el ADN es un enlace fosfodiéster de 3' a 5'. A menudo se seleccionan compuestos antisentido que tienen uno o más enlaces internucleosídicos modificados, es decir, de origen no natural, sobre los compuestos antisentido que tienen enlaces internucleosídicos de origen natural debido a propiedades deseables como, por ejemplo, captación celular mejorada, afinidad mejorada para los ácidos nucleicos objetivo y estabilidad aumentada en presencia de nucleasas.

Los oligonucleótidos que tienen enlaces internucleosídicos modificados incluyen enlaces internucleosídicos que retienen un átomo de fósforo, así como enlaces internucleosídicos que no tienen un átomo de fósforo. Los enlaces internucleosídicos que contienen fósforo representativos incluyen, pero no están limitados a, fosfodiésteres, fosfotriésteres, metilfosfonatos, fosforamido y fosforotioatos. Los métodos de preparación de enlaces que contienen fósforo y que no tienen fósforo son bien conocidos.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico de GHR comprenden uno o más enlaces internucleosídicos modificados. En ciertas realizaciones, los enlaces internucleosídicos modificados son enlaces de fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico de un compuesto antisentido es un enlace internucleósido de fosforotioato.

Fracciones de azúcar modificado

Los compuestos antisentido pueden contener opcionalmente uno o más nucleósidos en los que el grupo azúcar se ha modificado. Tales nucleósidos modificados en el azúcar pueden impartir una estabilidad de nucleasas mejorada, afinidad de unión aumentada o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos antisentido. En ciertas realizaciones, los nucleósidos comprenden fracciones de anillo de ribofuranosa químicamente modificado. Los ejemplos de anillos de ribofuranosa químicamente modificados incluyen, sin limitación, la adición de grupos sustituyentes (incluyendo grupos sustituyentes 5' y 2', formación de puentes de átomos de anillo no geminal para formar ácidos nucleicos bicíclicos (BNA), reemplazo del átomo de oxígeno del anillo de ribosilo con S, N(R) o C(R₁)(R₂) (R, R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, alquilo C₁-C₁₂ o un grupo protector) y combinaciones de los mismos. Ejemplos de azúcares químicamente modificados incluyen nucleósido sustituido con 2'-F-5'-metilo (ver la Solicitud Internacional PCT WO 2008/101157 publicada el 21/08/08 para otros nucleósidos 5',2'-bis sustituidos descritos) o el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo de ribosilo con S con sustitución adicional en la posición 2' (ver la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada US2005-0130923, publicada el 16 de junio de 2005) o, alternativamente, sustitución 5' de un BNA (ver la Solicitud Internacional PCT WO 2007/134181 publicada el 22/11/07 en donde LNA está sustituido con, por ejemplo, un grupo 5'-metilo o 5'-vinilo).

Los ejemplos de nucleósidos que tienen fracciones de azúcar modificado incluyen, sin limitación, nucleósidos que comprenden grupos sustituyentes de 5'-vinilo, 5'-metilo (R o S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2'-OCH₂CH₃, 2'-OCH₂CH₂F y 2'-O-(CH₂)₂OCH₃. El sustituyente en la posición 2' también puede seleccionarse de alilo, amino, azido, tio, O-alilo, O-alquilo C₁-C₁₀, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), y O-CH₂-C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n), donde cada R₁, R_m y R_n es, independientemente, H o alquilo C₁-C₁₀ sustituido o no sustituido.

Como se usa en la presente, "nucleósidos bicíclicos" se refiere a nucleósidos modificados que comprenden una fracción de azúcar bicíclico. Los ejemplos de nucleósidos bicíclicos incluyen, sin limitación, nucleósidos que comprenden un puente entre los átomos del anillo de ribosilo 4' y 2'. En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido proporcionados en la presente incluyen uno o más nucleósidos bicíclicos que comprenden un puente de 4' a 2'. Los ejemplos de tales nucleósidos bicíclicos con puente de 4' a 2' incluyen, pero no están limitados a, una de las fórmulas: 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' (también referido como etilo restringido o cEt) y 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (y análogos de los mismos, ver la Patente de Estados Unidos 7.399.845, concedida el 15 de julio de 2008); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (y análogos del mismo ver la Solicitud Internacional publicada WO/2009/006478, publicada el 8 de enero de, 2009); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (y análogos del mismo ver la Solicitud Internacional publicada WO/2008/150729, publicada el 11 de diciembre de, 2008); 4'-CH₂-ON(CH₃)-2' (ver la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada US2004-0171570, publicada el 2 de septiembre de, 2004); 4'-CH₂-

N(R)-O-2', en donde R es H, alquilo C₁-C₁₂, o un grupo protector (ver la Patente de Estados Unidos 7.427.672, concedida el 23 de septiembre, 2008); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (ver Chattopadhyaya et al, J. Org Chem, 2009, 74, 118-134...); y 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (y análogos del mismo ver la Solicitud Internacional publicada WO 2008/154401, publicada el 8 de diciembre de 2008).

Informes adicionales relacionados con nucleósidos bicíclicos también pueden encontrarse en la bibliografía publicada (ver, por ejemplo: Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al., Curr. Opinion Invest. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; and Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; Patentes de Estados Unidos N° 6.268.490.; 6.525.191; 6.670.461; 6.770.748; 6.794.499; 7.034.133; 7.053.207; 7.399.845; 7.547.684; y 7.696.345; Publicación de Patente de Estados Unidos N° US2008-0039618; US2009-0012281; Patentes de Estados Unidos N° de serie 60/989.574.; 61/026.995; 61/026.998; 61/056.564; 61/086.231; 61/097.787; y 61/099.844; Solicitudes Internacionales de PCT publicadas WO 1994/014226; WO 2004/1063 56; WO 2005/021570; WO 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401; y WO 2009/006478. Cada uno de los nucleósidos bicíclicos anteriores puede prepararse con una o más configuraciones de azúcar estereoquímicas que incluyen, por ejemplo, α-L-ribofuranosa y β-D-ribofuranosa (ver la Solicitud Internacional de PCT PCT/DK98/00393, publicada el 25 de marzo de 1999 como WO 99/14226).

En ciertas realizaciones, los fracciones de azúcar bicíclico de los nucleósidos de BNA incluyen, pero no están limitadas a, compuestos que tienen por lo menos un puente entre la posición 4' y 2' de la fracción de azúcar de pentofuranosilo en donde dichos puentes comprenden independientemente 1 o de 2 a 4 grupos enlazados seleccionados independientemente de -[C(R_a)(R_b)]_n-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=O)-, -C(=NR_a)-, -C(=S)-, -O-, -Si(R_a)₂-, -S(=O)_x-, y -N(R_a)-;

en donde:

x es 0, 1 o 2;

n es 1, 2, 3 o 4;

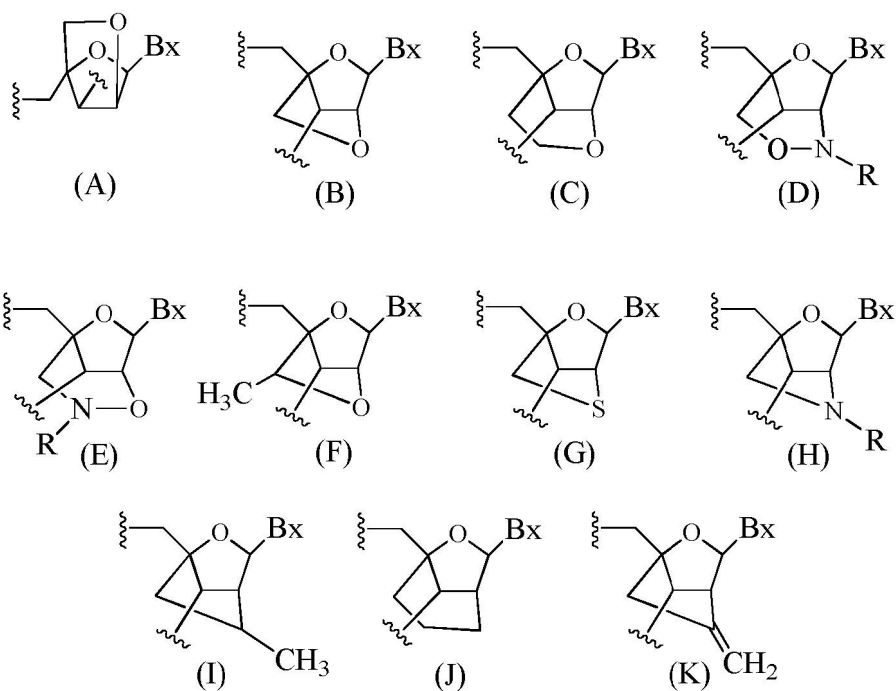
cada R_a y R_b es, independientemente, H, un grupo protector, hidroxilo, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, arilo C₅-C₂₀, arilo C₅-C₂₀ sustituido, radical heterociclo, radical heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C₅-C₇, radical alicíclico C₅-C₇ sustituido, halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, CN, sulfonilo (S(=O)₂-J₁), o sulfoxilo (S(=O)-J₁); y

cada J₁ y J₂ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, arilo C₅-C₂₀, arilo C₅-C₂₀ sustituido, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, aminoalquilo C₁-C₁₂, aminoalquilo C₁-C₁₂ sustituido o un grupo protector.

En ciertas realizaciones, el puente de una fracción de azúcar bicíclico es [C(R_a)(R_b)]_n-, [C(R_a)(R_b)]_n-O-, -C(R_aR_b)-N(R)-O- o -C(R_aR_b)-O-N(R)-. En ciertas realizaciones, el puente es 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2', 4'-CH₂-O-2', 4'-(CH₂)₂-O-2', 4'-CH₂-O-N(R)-2' y 4'-CH₂-N(R)-O-2' en donde cada R es, independientemente, H, un grupo protector o alquilo C₁-C₁₂.

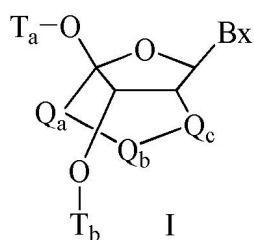
En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos se definen adicionalmente por configuración isomérica. Por ejemplo, un nucleósido que comprende un puente 4'-2' metileno-oxi, puede estar en la configuración α-L o en la configuración β-D. Anteriormente, las BNA α-L-metilenoxi (4'-CH₂-O-2') se han incorporado en oligonucleótidos antisentido que mostraban actividad antisentido (Frieden et al., NucleicAcids Research, 2003, 21, 6365-6372).

En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos incluyen, pero no están limitados a, (A) α-L-metileneoxi (4'-CH₂-O-2') BNA, (B) β-D-metileneoxi (4'-CH₂-O-2') BNA, (C) etileneoxi (4'-(CH₂)₂-O-2') BNA, (D) aminooxi (4'-CH₂-ON(R)-2') BNA, (E) oxiamino (4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA y (F) metil(metileneoxi) (4'-CH(CH₃)-O-2') BNA, (G) metilen-tio (4'-CH₂-S-2') BNA, (H) metilen-amino (4'-CH₂-N(R)-2') BNA, (I) metil carbocíclico (4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA, (J) propileno carbocíclico (4'-(CH₂)₃-2') BNA y (K) vinil BNA como se representa a continuación:



en donde Bx es la fracción de base y R es independientemente H, un grupo protector, alquilo C₁-C₁₂ o alcoxi C₁-C₁₂.

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula I:



en donde:

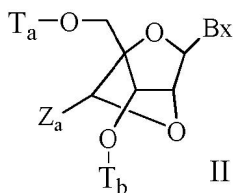
Bx es una fracción de base heterocíclica;

-Q_a-Q_b-Q_c- es -CH₂-N(R_c)-CH₂-, -C(=O)-N(R_c)-CH₂-, -CH₂-O-N(R_c)-, -CH₂-N(R_c)-O- o -N(R_c)-O-CH₂;

R_c es alquilo C₁-C₁₂ o un grupo protector de amino; y

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, una fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte.

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula II:



en donde:

Bx es una fracción de base heterocíclica;

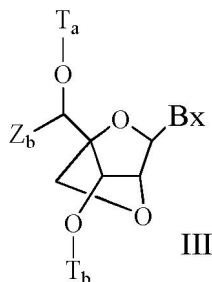
T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo

de fósforo reactivo, una fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z_a es alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 sustituido, acilo, acilo sustituido, amida sustituida, tior o tio sustituido.

En una realización, cada uno de los grupos sustituidos está, independientemente, mono o poli sustituido con grupos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, oxo, hidroxilo, OJ_c , NJ_cJ_d , SJ_c , N_3 , $OC(=X)J_c$, and $NJ_cC(=X)NJ_cJ_d$, en donde cada J_c , J_d y J_e es, independientemente, H, alquilo C_1-C_6 , o alquilo C_1-C_6 sustituido y X es O o NJ_c .

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula III:



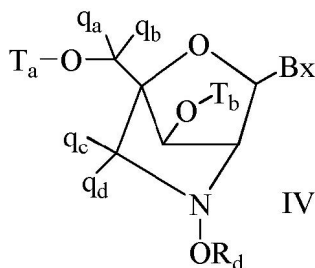
en donde:

Bx es una fracción de base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, una fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

Z_b es alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 sustituido o acilo sustituido ($C(=O)-$).

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula IV:



en donde:

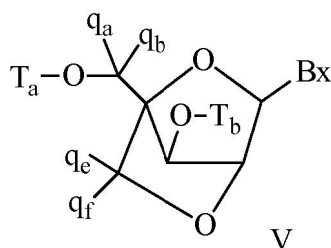
Bx es una fracción de base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, una fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

R_d es alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 , alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 o alquino C_2-C_6 sustituido;

cada q_a , q_b , q_c y q_d es, independientemente, H, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 , alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 o alquino C_2-C_6 sustituido, alcoxilo C_1-C_6 , alcoxilo C_1-C_6 sustituido, acilo, acilo sustituido, aminoalquilo C_1-C_6 o aminoalquilo C_1-C_6 sustituido;

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula V:



en donde:

Bx es una fracción de base heterocíclica;

Ta y Tb son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, una fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

qa, qb, qc y qd son cada uno, independientemente, hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, alcoxi C₁-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂ sustituido, OJ_i, SJ_i, SOJ_i, SO₂J_i, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_i, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_i, O-C(=O)NJ_jJ_k, N(H)C(=NH)NJ_jJ_k, N(H)C(=O)NJ_jJ_k o N(H)C(=S)NJ_jJ_k;

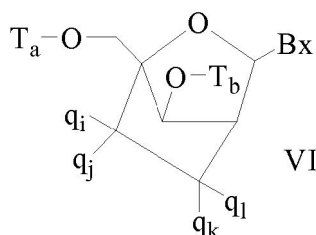
o qc y qd juntos son =C(qg)(qh);

qg y qh son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₁₂ o alquilo C₁-C₁₂ sustituido.

Se ha descrito la síntesis y preparación de los monómeros de metilenoexi (4'-CH₂-O-2') BNA adenina, citosina, guanina, 5-metil-citosina, timina y uracilo, junto con su oligomerización y propiedades de reconocimiento de ácidos nucleicos (Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). Los BNA y la preparación de los mismos también se describen en las WO 98/39352 y WO 99/14226.

También se han preparado análogos de metilenoexi (4'-CH₂-O-2') BNA y 2'-tio-BNA, (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222) También se ha descrito la preparación de análogos de nucleósidos bloqueados que comprenden dúplex de oligodesoxirribonucleótidos como sustratos para polimerasas de ácido nucleico (Wengel et al., WO 99/14226). Además, se ha descrito en la técnica la síntesis de 2'-amino-BNA, un novedoso análogo de oligonucleótidos de alta afinidad restringido conformacionalmente (Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). Además, se han preparado 2'-amino- y 2'-metilamino-BNA y se ha informado anteriormente sobre la estabilidad térmica de sus dúplex con cadenas complementarias de ARN y ADN.

En ciertas realizaciones, se proporcionan nucleósidos bicíclicos que tienen la Fórmula VI:



en donde:

Bx es una fracción de base heterocíclica;

Ta y Tb son cada uno, independientemente H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado, un grupo de fósforo reactivo, una fracción de fósforo o una unión covalente a un medio de soporte;

cada qi, qj, qk y ql es, independientemente, H, halógeno, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, alcoxi C₁-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂ sustituido, OJ_i, SJ_i, SOJ_i, SO₂J_i, NJ_jJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_i, C(=O)NJ_jJ_k, C(=O)J_i, O-C(=O)NJ_jJ_k, N(H)C(=NH)NJ_jJ_k, N(H)C(=O)NJ_jJ_k o N(H)C(=S)NJ_jJ_k; y

q_i y q_j o q_i y q_k juntos son $=C(q_g)(q_h)$, en donde q_g y q_h son cada uno, independientemente, H, halógeno, alquilo C_1 - C_{12} o alquilo C_1 - C_{12} sustituido.

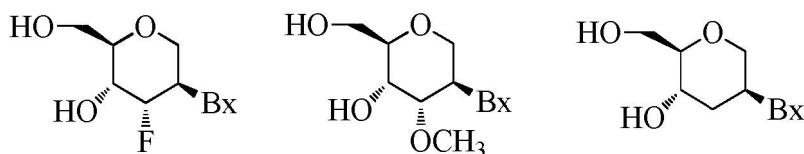
Se ha descrito un nucleósido bicíclico carbocíclico que tiene un puente 4'-(CH_2)₃-2' y el puente análogo de alqueno 4'-CH=CH-CH₂- (Freier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4429-4443 y Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740). También se ha descrito la síntesis y preparación de nucleósidos bicíclicos carbocíclicos junto con su oligomerización y estudios bioquímicos (Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26), 8362-8379).

Como se usa en la presente, "nucleósido bicíclico 4'-2' " o "nucleósido bicíclico 4' a 2' " se refiere a un nucleósido bicíclico que comprende un anillo de furanosa que comprende un puente que conecta dos átomos de carbono del anillo de furanosa que conecta el átomo de carbono 2' y el átomo de carbono 4' del anillo de azúcar.

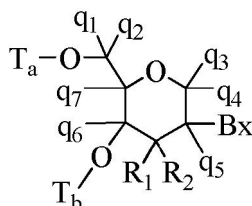
Como se usa en la presente, "nucleósidos monocíclicos" se refiere a nucleósidos que comprenden fracciones de azúcar modificado que no son fracciones de azúcar bicíclico. En ciertas realizaciones, la fracción de azúcar, o análogo de fracción de azúcar, de un nucleósido puede modificarse o sustituirse en cualquier posición.

Como se usa en la presente, "azúcar 2' modificado" significa un azúcar de furanosilo modificado en la posición 2'. En ciertas realizaciones, tales modificaciones incluyen sustituyentes seleccionados de: un haluro, que incluye, pero no está limitado a, alcoxi sustituido y no sustituido, tioalquilo sustituido y no sustituido, aminoalquilo sustituido y no sustituido, alquilo sustituido y no sustituido, alilo sustituido y no sustituido, y alquinilo sustituido y no sustituido. En ciertas realizaciones, las modificaciones 2' se seleccionan de sustituyentes que incluyen, pero no están limitadas a: $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$, $O(CH_2)_nNH_2$, $O(CH_2)_nCH_3$, $O(CH_2)_nF$, $O(CH_2)_nONH_2$, $OCH_2C(=O)N(H)CH_3$, y $O(CH_2)_nON[(CH_2)_mCH_3]_2$, donde n y m son de 1 a aproximadamente 10. Otros grupos sustituyente 2' también pueden seleccionarse de: alquilo C_1 - C_{12} , alquilo sustituido, alqueno, alquinilo, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo u O-aralquilo, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, F, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, heterocicloalquilo, heterocicloalcarilo, aminoalquilamino, polialquilamino, sililo sustituido, un grupo de escisión de ARN, un grupo informador, un intercalador, un grupo para mejorar las propiedades farmacocinéticas, o un grupo para mejorar las propiedades farmacodinámicas de un compuesto antisentido y otros sustituyentes que tengan propiedades similares. En ciertas realizaciones, los nucleósidos modificados comprenden una cadena lateral 2'-MOE (Baker et al., J. Biol. Chem., 1997, 272, 11944-12000). Se ha descrito que dicha sustitución 2'-MOE tiene una afinidad de unión mejorada en comparación con los nucleósidos no modificados y con otros nucleósidos modificados, como 2'-O- metilo, O-propilo y O-aminopropilo. También se ha demostrado que los oligonucleótidos que tienen el sustituyente 2'-MOE son inhibidores antisentido de la expresión génica con características prometedoras para su uso *in vivo* (Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637; y Altmann et al., Nucleosides Nucleotides, 1997, 16, 917-926).

Como se usa en la presente, un "nucleósido de tetrahidropirano modificado" o "nucleósido de THP modificado" significa un nucleósido que tiene un "azúcar" de tetrahidropirano de seis miembros sustituido por el residuo de pentofuranosilo en nucleósidos normales (un sustituto de azúcar). Los nucleósidos de THP modificados incluyen, pero no están limitados a, lo que es referido en la técnica como ácido nucleico de hexitol (HNA), ácido nucleico de anitol (ANA), ácido nucleico de manitol (MNA) (ver Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854) o fluoro HNA (F-HNA) que tiene un sistema de anillo de tetrahidropirano como se ilustra a continuación:



En ciertas realizaciones, los sustitutos de azúcar se seleccionan con la Fórmula VII:



VII

en donde independientemente para cada uno de dicho por lo menos un análogo de nucleósido de tetrahidropirano

de Fórmula VII:

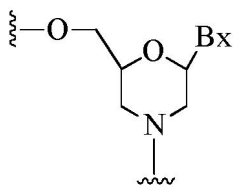
Bx es una fracción de base heterocíclica;

T_a y T_b son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleósido que enlaza el análogo de nucleósido de tetrahidropirano con el compuesto antisentido o uno de T_a y T_b es un grupo de enlace internucleósido que enlaza el análogo de nucleósido de tetrahidropirano con el compuesto antisentido y el otro de T_a y T_b es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo 5' o 3'-terminal;

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido; y cada uno de R₁ y R₂ se selecciona de hidrógeno, hidroxilo, halógeno, alcoxi sustituido o no sustituido, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en donde X es O, S o NJ₁ y cada J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆.

En ciertas realizaciones, se proporcionan los nucleósidos de THP modificados de Fórmula VII en donde q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En ciertas realizaciones, por lo menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es diferente de H. En ciertas realizaciones, por lo menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo. En ciertas realizaciones, se proporcionan los nucleósidos de THP de fórmula VII en donde uno de R₁ y R₂ es fluoro. En ciertas realizaciones, R₁ es fluoro y R₂ es H; R₁ es metoxi y R₂ es H, y R₁ es metoxietoxi y R₂ es H.

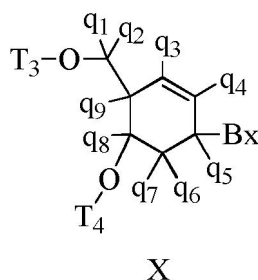
En ciertas realizaciones, los sustitutos del azúcar comprenden anillos que tienen más de 5 átomos y más de un heteroátomo. Por ejemplo, se ha informado de nucleósidos que comprenden fracciones de azúcar de morfolino y su uso en compuestos oligoméricos (ver, por ejemplo: Braasch et al., Biochemistry, 2002, 41, 4503-4510; y las Patentes de Estados Unidos 5.698.685; 5.166.315; 5.185.444; y 5.034.506). Como se usa en la presente, el término "morfolino" significa un sustituto del azúcar que tiene la fórmula siguiente:



En ciertas realizaciones, los morfolinos pueden modificarse, por ejemplo, añadiendo o alterando varios grupos sustituyentes de la estructura morfolino anterior. Tales sustitutos del azúcar son referidos en la presente como "morfolinos modificados".

También se proporcionan combinaciones de modificaciones sin limitación, como nucleósidos sustituidos con 2'-F-5'-metilo (ver la Solicitud Internacional PCT WO 2008/101157 publicada el 21/08/08 para otros nucleósidos 5',2'-bis sustituidos divulgados) y el reemplazo del átomo de oxígeno del anillo de ribosilo con S y la sustitución adicional en la posición 2' (ver la Solicitud de Patente de Estados Unidos publicada US2005-0130923, publicada el 16 de junio de 2005) o alternatively la sustitución 5' de un ácido nucleico bicíclico (ver la Solicitud Internacional de PCT WO 2007/134181, publicada el 22/11/07 en donde un nucleósido bicíclico 4'-CH₂-O-2' se sustituye adicionalmente en la posición 5' con un grupo 5'-metilo o 5'-vinilo). También se han descrito la síntesis y la preparación de nucleósidos bicíclicos carbocíclicos junto con su oligomerización y estudios bioquímicos (ver, *por ejemplo*, Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc. 2007, 129 (26), 8362-8379).

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido comprenden uno o más nucleósidos de ciclohexenilo modificados, que es un nucleósido que tiene un ciclohexenilo de seis miembros en lugar del residuo de pentofuranosilo en nucleósidos de origen natural. Los nucleósidos de ciclohexenilo modificados incluyen, pero no están limitados a, los descritos en la técnica (ver, por ejemplo, la solicitud de PCT publicada de propiedad compartida WO 2010/036696, publicada el 10 de abril de 2010, Robeyns et al., J. Am. Chem. Soc., 2008, 130(6), 1979-1984; Horváth et al., Tetrahedron Letters, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(30), 9340-9348; Gu et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts et al., Nucleic Acids Research, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns et al., Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2005, F61(6), 585-586; Gu et al., Tetrahedron, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu et al., Oligonucleotides, 2003, 13(6), 479-489; Wang et al., J. Org. Chem., 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al., Nucleic Acids Research, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang et al., J. Org. Chem., 2001, 66, 8478-82; Wang et al., Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang et al., J. Am. Chem., 2000, 122, 8595-8602; Solicitud de PCT publicada, WO 06/047842; y Solicitud de PCT publicada WO 01/049687). Ciertos nucleósidos de ciclohexenilo modificados tienen Fórmula X.



en donde independientemente para cada uno de dicho por lo menos un análogo de nucleósido de ciclohexenilo de Fórmula X:

Bx es una fracción de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de enlace internucleosídico que enlaza el análogo de nucleósido de ciclohexenilo con un compuesto antisentido o uno de T₃ y T₄ es un grupo de enlace internucleosídico que enlaza el análogo de nucleósido de tetrahidropirano con un compuesto antisentido y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado enlazado, o un grupo 5'- o 3'-terminal; y

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆, q₇, q₈ y q₉ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alquenilo C₂-C₆, alquenilo C₂-C₆ sustituido, alquinilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ sustituido u otro grupo sustituyente de azúcar.

Como se usa en la presente, "2' modificado" o "2' sustituido" se refiere a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un sustituyente en la posición 2' diferente de H u OH. Los nucleósidos 2' modificados, incluyen, pero no están limitados a, nucleósidos bicíclicos en los que el puente que conecta dos átomos de carbono del anillo de azúcar conecta el carbono 2' y otro carbono del anillo de azúcar; y nucleósidos con sustituyentes 2' que no forman puentes, como alilo, amino, azido, tio, O-alilo, O-alquilo C₁-C₁₀, -OCF₃, O-(CH₂)₂-O-CH₃, 2'-O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), o O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), donde cada R_m y R_n es, independientemente, H o alquilo C₁-C₁₀ sustituido o no sustituido. Los nucleósidos 2' modificados pueden comprender además otras modificaciones, por ejemplo en otras posiciones del azúcar y/o en la nucleobase.

Como se usa en la presente, "2'-F" se refiere a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un grupo fluoro en la posición 2' del anillo de azúcar.

Como se usa en la presente, "2'-OMe" o "2'-OCH₃" o "2'-O-metilo" se refieren cada uno a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende un grupo -OCH₃ en la posición 2' del anillo de azúcar.

Como se usa en la presente, "MOE" o "2'-MOE" o "2'-OCH₂CH₂OCH₃" o "2'-O-metoxietilo" se refieren cada uno a un nucleósido que comprende un azúcar que comprende grupo un -OCH₂CH₂OCH₃ en la posición 2' del anillo de azúcar.

Como se usa en la presente, "oligonucleótido" se refiere a un compuesto que comprende una pluralidad de nucleósidos enlazados. En ciertas realizaciones, se modifica uno o más de la pluralidad de nucleósidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido comprende uno o más ribonucleósidos (ARN) y/o desoxirribonucleósidos (ADN).

En la técnica también se conocen muchos otros sistemas de anillos sustitutos de azúcar biciclo y triciclo que pueden usarse para modificar nucleósidos para su incorporación en compuestos antisentido (ver, por ejemplo, el artículo de revisión: Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854). Tales sistemas de anillo pueden someterse a varias sustituciones adicionales para mejorar la actividad.

Los métodos para la preparación de azúcares modificados son bien conocidos por los expertos en la técnica. Algunas patentes representativas de Estados Unidos que enseñan la preparación de dichos azúcares modificados incluyen, si limitación las U.S.: 4.981.957; 5.118.800; 5.319.080; 5.359.044; 5.393.878; 5.446.137; 5.466.786; 5.514.785; 5.519.134; 5.567.811; 5.576.427; 5.591.722; 5.597.909; 5.610.300; 5.627.053; 5.639.873; 5.646.265; 5.670.633; 5.700.920; 5.792.847 y 6.600.032 y la Solicitud Internacional PCT/US2005/019219, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121371 el 22 de diciembre de 2005.

En los nucleótidos que tienen fracciones de azúcar modificado, las fracciones de nucleobases (naturales, modificadas o una combinación de los mismos) se mantienen para la hibridación con un objetivo de ácido nucleico apropiado.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido comprenden uno o más nucleósidos que tienen fracciones de azúcar modificado. En ciertas realizaciones, la fracción de azúcar modificado es 2'-MOE. En ciertas realizaciones, los nucleósidos modificados con 2'-MOE están dispuestos en un motivo gapmer. En ciertas realizaciones, la fracción de azúcar modificado es un nucleósido bicíclico que tiene un (4'-CH(CH₃)-O-2'). En ciertas realizaciones, los nucleósidos modificados con (4'-CH(CH₃)-O-2') están dispuestos a lo largo de las alas de un motivo gapmer.

Nucleobases modificadas

Las modificaciones o sustituciones de nucleobases (o bases) son estructuralmente distinguibles de, pero funcionalmente intercambiables con nucleobases no modificadas de origen natural o sintéticas. Tanto las nucleobases naturales como las modificadas son capaces de participar en enlaces de hidrógeno. Tales modificaciones de nucleobase pueden impartir estabilidad de nucleasas, afinidad de unión o alguna otra propiedad biológica beneficiosa a los compuestos antisentido. Las nucleobases modificadas incluyen nucleobases sintéticas y naturales como, por ejemplo, 5-metilcitosina (5-me-C). Ciertas sustituciones de nucleobases, incluyendo las sustituciones de 5-metilcitosina, son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de un compuesto antisentido para un ácido nucleico objetivo. Por ejemplo, se ha demostrado que las sustituciones de 5-metilcitosina aumentan la estabilidad dúplex de ácido nucleico en 0.6-1.2° C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. y Lebleu, B., eds., *Antisense Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278).

Nucleobases modificadas adicionales incluyen 5-hidroximetil citosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metil y otros derivados de alquilo de adenina y guanina, 2-propilo y otros derivados de alquilo de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil (-C≡C-CH₃) uracilo y citosina y otros derivados de alquilo de bases de pirimidina, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas 8-sustituidas, 5-halo particularmente 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas 5-sustituidos, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 2-F-adenina, 2-amino-adenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-deazaguanina y 7-deazaadenina y 3-deazaguanina y 3-deazaadenina.

Las fracciones de bases heterocíclicas también pueden incluir aquellas en las que la base de purina o pirimidina se reemplaza con otros heterociclos, por ejemplo 7-deaza-adenina, 7-deazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. Las nucleobases que son particularmente útiles para aumentar la afinidad de unión de los compuestos antisentido incluyen pirimidinas 5-sustituidas, 6-azapirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, que incluyen 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilocitosina.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido dirigidos a un ácido nucleico de GHR comprenden una o más nucleobases modificadas. En ciertas realizaciones, los oligonucleótidos antisentido acortados o ensanchados en la separación dirigidos a un ácido nucleico de GHR comprenden una o más nucleobases modificadas. En ciertas realizaciones, la nucleobase modificada es 5-metilcitosina. En ciertas realizaciones, cada citosina es una 5-metilcitosina.

Compuestos antisentido conjugados

Los compuestos antisentido pueden enlazarse covalentemente con una o más fracciones o conjugados que mejoran la actividad, la distribución celular o la captación celular de los oligonucleótidos antisentido resultantes. Los grupos conjugados típicos incluyen fracciones de colesterol y fracciones de lípidos. Los grupos conjugados adicionales incluyen carbohidratos, fosfolípidos, biotina, fenazina, folato, fenantridina, antraquinona, acridina, fluoresceínas, rodaminas, cumarinas y colorantes.

Los compuestos antisentido también pueden modificarse para tener uno o más grupos estabilizadores que están generalmente unidos a uno o ambos extremos terminales de compuestos antisentido para mejorar propiedades como, por ejemplo, la estabilidad de la nucleasa. En los grupos estabilizadores se incluyen las estructuras de tapa. Estas modificaciones terminales protegen al compuesto antisentido que tiene ácido nucleico terminal de la degradación de exonucleasas, y pueden ayudar en la administración y/o localización dentro de una célula. La tapa puede estar presente en el extremo terminal 5' (tapa 5'), o en el extremo terminal 3' (tapa 3'), o puede estar presente en ambos extremos terminales. Las estructuras de tapa son bien conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, tapas desoxi abásicas invertidas. Grupos estabilizadores adicionales 3' y 5' que pueden usarse para tapar uno o ambos extremos de un compuesto antisentido para impartir estabilidad de nucleasas incluyen los divulgados en la WO 03/004602 publicada el 16 de enero de 2003.

En ciertas realizaciones, los compuestos antisentido, incluyendo, pero no limitados a aquellos particularmente adecuados para su uso como ARNm, se modifican mediante la unión de uno o más grupos conjugados. En general, los grupos conjugados modifican una o más propiedades del oligonucleótido unido, incluyendo pero no limitadas a, farmacodinámica, farmacocinética, estabilidad, unión, absorción, distribución celular, captación celular, carga y depuración. Los grupos conjugados se usan rutinariamente en las técnicas químicas y se

enlazan directamente o mediante una fracción de enlace conjugado opcional o un grupo de enlace conjugado a un compuesto original como un oligonucleótido. Los grupos conjugados incluyen, sin limitación, intercaladores, moléculas informadoras, poliaminas, poliamidas, polietilenglicoles, tioéteres, poliéteres, colesterolos, tiocolesterolos, fracciones de ácido cólico, folato, lípidos, fosfolípidos, biotina, fenazina, fenantridina, antraquinona, adamantano, acridina, fluoresceínas, rodaminas, cumarinas y colorantes. Ciertos grupos conjugados se han descrito anteriormente, por ejemplo: fracción de colesterol (Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86, 6553-6556), ácido cólico (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1994, 4, 1053-1060), un tioéter, por ejemplo, hexil-S-tritilol (Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660, 306-309; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Let., 1993, 3, 2765-2770), un tiocolesterol (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20, 533-538), una cadena alifática, por ejemplo, do-decan-diol o residuos de undecilo (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10, 1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259, 327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75, 49-54), un fosfolípido, por ejemplo, di-hexadecil-rac-glicerol o 1,2-di-O-hexadecil-rac-glicero-3-H-fosfonato de trietilamonio (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18, 3777-3783), una cadena de poliamina o polietilenglicol (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14, 969-973), o ácido acético de adamantano (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36, 3651-3654), una fracción palmitilo (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264, 229-237), o una fracción de octadecilamina o hexilamino-carbonil-oxicoesterol (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277, 923-937).

Para conjugados adicionales incluyendo aquellos útiles para ARNmc y su colocación dentro de compuestos antisentido, ver, por ejemplo, la Solicitud de Estados Unidos N° 61/583.963.

Pruebas in vitro de oligonucleótidos antisentido

En la presente se describen métodos para el tratamiento de células con oligonucleótidos antisentido, que pueden modificarse apropiadamente para el tratamiento con otros compuestos antisentido.

Las células pueden tratarse con oligonucleótidos antisentido cuando las células alcanzan aproximadamente un 60-80% de confluencia en cultivo.

Un reactivo usado comúnmente para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye el reactivo de transfección de lípidos catiónicos LIPOFECTIN (Invitrogen, Carlsbad, CA). Los oligonucleótidos antisentido pueden mezclarse con LIPOFECTINA en OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración final deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTINA que puede variar de 2 a 12 ug/ml por oligonucleótido antisentido 100 nM.

Otro reactivo usado para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye LIPOFECTAMINA (Invitrogen, Carlsbad, CA). El oligonucleótido antisentido se mezcla con LIPOFECTAMINA en medio sérico reducido OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) para lograr la concentración deseada de oligonucleótido antisentido y una concentración de LIPOFECTAMINA que puede variar de 2 a 12 ug/ml por oligonucleótido antisentido 100 nM.

Otra técnica usada para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas incluye la electroporación.

Otra técnica más, usada para introducir oligonucleótidos antisentido en células cultivadas, incluye la captación libre de los oligonucleótidos por las células.

Las células se tratan con oligonucleótidos antisentido mediante métodos rutinarios. Las células pueden recogerse 16-24 horas después del tratamiento con oligonucleótidos antisentido, momento en el cual los niveles de ARN o proteína de los ácidos nucleicos objetivo se miden mediante métodos conocidos en la técnica y descritos en la presente. En general, cuando los tratamientos se realizan en múltiples repeticiones, los datos se presentan como la media de los tratamientos replicados.

La concentración de oligonucleótido antisentido usado varía de una línea celular a otra. Los métodos para determinar la concentración óptima de oligonucleótidos antisentido para una línea celular particular son bien conocidos en la técnica. Los oligonucleótidos antisentido se usan típicamente en concentraciones que varían de 1 nM a 300 nM cuando se transfectan con LIPOFECTAMINA. Los oligonucleótidos antisentido se usan en concentraciones más altas que varían de 625 a 20.000 nM cuando se transfectan mediante electroporación.

Aislamiento de ARN

El análisis de ARN puede realizarse en ARN celular total o poli(A)+ ARNm. Los métodos de aislamiento de ARN son bien conocidos en la técnica. El ARN se prepara usando métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, usando el reactivo TRIZOL (Invitrogen, Carlsbad, CA) de acuerdo con los protocolos recomendados por el fabricante.

Ciertas indicaciones

5 Ciertas realizaciones proporcionadas en la presente se refieren a métodos para tratar, prevenir o mejorar una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento en un sujeto mediante la administración de un inhibidor específico de GHR, como un compuesto antisentido u oligonucleótido dirigido a GHR. En ciertos aspectos, la enfermedad asociada con el exceso de hormona del crecimiento es la acromegalia. En ciertos aspectos, la enfermedad asociada con el exceso de hormona del crecimiento es el gigantismo.

10 Ciertas realizaciones proporcionan un método para tratar, prevenir o mejorar la acromegalia en un sujeto mediante la administración de un inhibidor específico de GHR, como un compuesto antisentido u oligonucleótido dirigido a GHR. La acromegalia es una enfermedad asociada con el exceso de hormona del crecimiento (GH). En más del 90 por ciento de los pacientes con acromegalia, la sobreproducción de hormonas de crecimiento está provocada por un tumor benigno de la glándula pituitaria, llamado adenoma, que produce un exceso de hormona de crecimiento y comprime los tejidos del cerebro circundantes. La expansión del adenoma puede provocar dolores de cabeza y discapacidad visual que a menudo acompañan a la acromegalia. En algunos casos, la acromegalia está provocada por tumores del páncreas, los pulmones o las glándulas suprarrenales que llevan a un exceso de GH, ya sea produciendo GH o produciendo la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH), la hormona que estimula la hipófisis para producir GH.

20 La acromegalia afecta más comúnmente a adultos de edad media y puede provocar desfiguración grave, condiciones de complicaciones y muerte prematura. Debido a su patogénesis y progresión lenta, la acromegalia a menudo no se diagnostica hasta que se las características externas se vuelven perceptibles, como cambios en la cara. La acromegalia a menudo se asocia con gigantismo.

25 Las características de la acromegalia incluyen hinchazón de los tejidos blandos que da como resultado un agrandamiento de las manos, pies, nariz, labios y orejas, y un engrosamiento general de la piel; hinchazón de los tejidos blandos de los órganos internos, como el corazón y los riñones; hinchazón de las cuerdas vocales que da como resultado una voz baja y habla lenta; expansión del cráneo; protuberancia de las cejas pronunciada, a menudo con distensión ocular; protrusión de la mandíbula inferior pronunciada y agrandamiento de la lengua; espacios entre los dientes; y síndrome del túnel carpiano. En ciertas realizaciones, puede tratarse, prevenirse o mejorarse cualquiera o una combinación de estas características de la acromegalia mediante la administración de un compuesto o composición dirigida a GHR proporcionada en la presente.

EJEMPLOS

Divulgación no limitativa

40 Aunque ciertos compuestos, composiciones y métodos descritos en la presente se han descrito con especificidad de acuerdo con ciertas realizaciones, los siguientes ejemplos sirven solo para ilustrar los compuestos descritos en la presente y no se pretende que los limiten.

Ejemplo 1: inhibición antisentido del receptor de la hormona del crecimiento humano en células Hep3B por gapmers MOE

45 Los oligonucleótidos antisentido se diseñaron dirigidos a un ácido nucleico del receptor de la hormona del crecimiento (GHR) y se evaluaron sus efectos sobre el ARNm de GHR in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Se transfectaron células Hep3B cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 4.500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR por PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB (secuencia directa CGAGTTCACTGAGGTGCTCTATGT, designada en la presente como SEQ ID NO: 2297; secuencia inversa AAGAGCCATGGAAAGTAGAAATCTTC, designada en la presente como SEQ ID NO: 2298; secuencia de sonda TTCCTCAGATGAGCCAATT, designada en la presente como SEQ ID NO: 2299) para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

60 Los oligonucleótidos antisentido quiméricos recién diseñados en las Tablas siguientes se diseñaron como gapmers 5-10-5 MOE o 3-10-4 MOE. Los gapmers MOE 5-10-5 tienen 20 nucleósidos de longitud, en donde el segmento de separación central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden cinco nucleósidos cada una. Los gapmers MOE 3-10-4 tienen 17 nucleósidos de longitud, en donde el segmento de separación central comprende diez 2'-desoxinucleósidos y está flanqueado por segmentos de ala en la dirección 5' y la dirección 3' que comprenden tres y cuatro nucleósidos

respectivamente. Cada nucleósido en el segmento del ala 5' y cada nucleósido en el segmento del ala 3' tiene una modificación 2'-MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gapmer son 5-metilcitosinas. El "sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen humano. El "sitio de detención" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el gapmer es la secuencia del gen humano. Cada gapmer enumerado en las Tablas siguientes está dirigido al ARNm de GHR humana, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de registro GENBANK NM_000163.4) o la secuencia genómica de GHR humana, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de registro GENBANK NT_006576.16 truncado de los nucleótidos 42411001 a 42714000). 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100% de complementariedad. En caso de que no se muestre la alineación de secuencia para un gen objetivo en una tabla particular, se entiende que ninguno de los oligonucleótidos presentados en esa tabla se alinea con un 100% de complementariedad con ese gen objetivo.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 1

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2									
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO	
523266	164	183	Exón 1	ACCTCCGAGCTTCGCCTCTG	64	3040	3059	20	
523267	171	190	Unión Exón-exón	CTGTAGGACCTCCGAGCTTC	31	n/a	n/a	21	
523268	178	197	Unión Exón-exón	TCCATACCTGTAGGACCTCC	37	n/a	n/a	22	
523271	206	225	Exón 2	TGCCAAGGTCAACAGCAGCT	80	144990	145009	23	
523272	213	232	Exón 2	CTGCCAGTGCCAAGGTCAAC	53	144997	145016	24	
523273	220	239	Exón 2	CTTGATCCTGCCAGTGCCAA	49	145004	145023	25	
523274	227	246	Exón 2	AGCATCAC TTGATCCTGCCA	67	145011	145030	26	
523275	234	253	Exón 2	CAGAAAAAGCATCAC TTGAT	0	145018	145037	27	
523276	241	260	Exón 2	TCAC TTCCAGAAAAAGCATC	1	145025	145044	28	
523284	361	380	Exón 4	GTCTCTCGCTCAGGTGAACG	48	268024	268043	29	
523285	368	387	Exón 4	TGAAAAAGTCTCTCGCTCAG	15	268031	268050	30	
523286	375	394	Exón 4	AGTGGCATGAAAAAGTCTCT	14	268038	268057	31	
523287	382	401	Exón 4	TCTGTCCAGTGGCATGAAAA	4	268045	268064	32	
523301	625	644	Exón 6	GGATCTGGTTGCAC TATTTT	36	n/a	n/a	33	
523302	632	651	Exón 6	AATGGGTGGATCTGGTTGCA	28	278926	278945	34	
523303	647	666	Exón 6	AGTCCAGTTGAGGGCAATGG	26	278941	278960	35	
523304	654	673	Exón 6	TCAGTAAAGTCCAGTTGAGG	0	278948	278967	36	
523305	675	694	Exón 6	GAATCCCAGTTAAACTGACG	19	278969	278988	37	
523306	682	701	Exón 6	TCTGCATGAATCCCAGTTAA	39	278976	278995	38	
523309	736	755	Exón 6	ATCCATCCTTTCTGAA TATC	34	279030	279049	39	
523310	743	762	Exón 6	CAGAACCATCCATCCTTTCT	31	279037	279056	40	
523311	750	769	Exón 6	CATACTCCAGAACCATCCAT	44	279044	279063	41	

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523312	757	776	Exón 6	TGAAGTTCATACTCCAGAAC	23	279051	279070	42
523313	764	783	Exón 6	TTTGATTGAAGTTCATACT	6	279058	279077	43
523314	771	790	Exón 6	TTACTTCTTTGTATTGAAGT	0	279065	279084	44
523315	778	797	Exón 6	GTTTCATTTACTTCTTTGTA	3	279072	279091	45
523316	785	804	Exón 6	CCATTTAGTTTCATTTACTT	0	279079	279098	46
523317	792	811	Unión exón 4-exón 5	TCATTTTCCATTTAGTTTCA	19	n/a	n/a	47
523323	862	881	Exón 7	ACACGCACCTTCATA TTCCTT	63	290360	290379	48
523324	869	888	Exón 7	GGATCTCACACGCAC TTCAT	80	290367	290386	49
523328	926	945	Exón 7	AAGTGTTACATAGAGCACCT	56	290424	290443	50
523329	933	952	Exón 7	TCTGAGGAAGTGTTACATAG	53	290431	290450	51
523330	957	976	Exón 7	CTTC TTCACATGTAAATTGG	32	290455	290474	52
523331	964	983	Unión exón 5-exón 6	TAGAAATCTTCTTCACATGT	4	n/a	n/a	53
523332	971	990	Unión exón 5-exón 6	TGGAAAGTAGAAATC TTCCTT	9	n/a	n/a	54
523333	978	997	Exón 8	AGAGCCATGGAAAAGTAGAAA	46	292532	292551	55
523334	985	1004	Exón 8	ATAATTAGAGCCCATGGAAA	0	292539	292558	56

Tabla 2

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523421	2072	2091	exón 10	CAGTTGGTCTGTGCTCACAT	76	298489	298508	57
533002	207	226	exón 2	GTGCCAAGGTCAACAGCAGC	63	144991	145010	58
533003	208	227	exón 2	AGTGCCAAAGGTCAACAGCAG	62	144992	145011	59
533004	225	244	exón 2	CATCACTTGATCCTGCCAGT	53	145009	145028	60
533005	226	245	exón 2	GCATCACTTGATCCTGCCAG	80	145010	145029	61
533006	228	247	exón 2	AAGCATCACTTGATCCTGCC	75	145012	145031	62
533007	229	248	exón 2	AAAGCATCACTTGATCCTGC	61	145013	145032	63
533019	867	886	exón 7	ATCTCACACGCACCTTCATAT	35	290365	290384	64
533020	868	887	exón 7	GATCTCACACGCACCTTCATA	47	290366	290385	65
533021	870	889	exón 7	TGGATCTCACACGCACCTTCA	86	290368	290387	66
533022	871	890	exón 7	TTGGA TCTCACACGCACCTTC	70	290369	290388	67
533037	1360	1379	exón 10	TCCAGAA TGT CAGGTT CACA	59	297777	297796	68
533038	1361	1380	exón 10	CTCCAGAA TGT CAGGTT CAC	74	297778	297797	69
533039	1363	1382	exón 10	GTCTCCAGAA TGT CAGGTT C	45	297780	297799	70
533040	1364	1383	exón 10	AGTCTCCAGAA TGT CAGGTT	51	297781	297800	71
533042	1525	1544	exón 10	GCTTGGATAACACTGGGCTG	41	297942	297961	72
533043	1526	1545	exón 10	TGCTTGGATAACACTGGGCT	46	297943	297962	73
533044	1528	1547	exón 10	TCTGCTTGGATAACACTGGG	55	297945	297964	74
533045	1529	1548	exón 10	CTCTGCTTGGATAACACTGG	47	297946	297965	75
533046	1530	1549	exón 10	TCTCTGCTTGGATAACACTG	54	297947	297966	76
533047	1744	1763	exón 10	CAGAGTGAGACCA TTTCCGG	47	298161	298180	77
533048	1745	1764	exón 10	GCAGAGTGAGACCA TTTCCG	60	298162	298181	78
533049	1747	1766	exón 10	TGGCAGAGTGAGACCA TTTTC	65	298164	298183	79
533050	1748	1767	exón 10	TTGGCAGAGTGAGACCA TTTT	47	298165	298184	80

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533051	1749	1768	exón 10	CTTGGCAGAGTGAGACCAATT	30	298166	298185	81
533066	2685	2704	exón 10	CAGTGTGTAGTGAATATAA	53	299102	299121	82
533067	2686	2705	exón 10	ACAGTGTGTAGTGAATATA	68	299103	299122	83
533068	2688	2707	exón 10	ACACAGTGTGTAGTGAATA	62	299105	299124	84
533069	2689	2708	exón 10	TACACAGTGTGTAGTGAAT	55	299106	299125	85
533070	2690	2709	exón 10	GTACACAGTGTGTAGTGTA	50	299107	299126	86
533071	3205	3224	exón 10	TGTACCTTATTCCCTTCCTG	68	299622	299641	87
533072	3206	3225	exón 10	TTGTACCTTATTCCCTTCCT	61	299623	299642	88
533073	3208	3227	exón 10	TCTTGTACCTTATTCCCTTC	60	299625	299644	89
533074	3209	3228	exón 10	TTCTTGTACCTTATTCCCTT	46	299626	299645	90

Tabla 3

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532174	n/a	n/a	Intrón 1	ACATGTACCCAAACCAACAC	37	18731	18750	91
533086	3210	3229	Exón 10	CTTCTTGACCTTATTCCCT	72	299627	299646	92
533087	3212	3231	Exón 10	TGCTTCTTGACCTTATTCC	77	299629	299648	93
533088	3213	3232	Exón 10	ATGCTTCTTGACCTTATTCC	63	299630	299649	94
533089	3215	3234	Exón 10	AAATGCTTCTTGACCTTAT	67	299632	299651	95
533090	3216	3235	Exón 10	AAAATGCTTCTTGACCTTA	50	299633	299652	96
533091	3217	3236	Exón 10	CAAAATGCTTCTTGACCTT	44	299634	299653	97
533092	3518	3537	Exón 10	CTTCTGAATGCTTGCTTTGA	29	299935	299954	98
533093	3519	3538	Exón 10	TCTTCTGAATGCTTGCTTTG	47	299936	299955	99
533094	3521	3540	Exón 10	TTTCTTCTGAATGCTTGCTT	63	299938	299957	100
533095	3522	3541	Exón 10	TTTTCTTCTGAATGCTTGCT	51	299939	299958	101
533096	3523	3542	Exón 10	TTTTTCTTCTGAATGCTTGCT	34	299940	299959	102
533097	4041	4060	Exón 10	TGCGATAAATGGGAAATACT	36	300458	300477	103
533098	4042	4061	Exón 10	CTGCGATAAATGGGAAATAC	52	300459	300478	104
533099	4043	4062	Exón 10	TCTGCGATAAATGGGAAATA	41	300460	300479	105
533100	4045	4064	Exón 10	GGTCTGCGATAAATGGGAAA	40	300462	300481	106
533101	4046	4065	Exón 10	AGGTCGCGATAAATGGGAA	39	300463	300482	107
533102	4048	4067	Exón 10	AAAGGTCTGCGATAAATGGG	34	300465	300484	108
533103	4049	4068	Exón 10	AAAAGGTCTGCGATAAATGG	35	300466	300485	109
533104	4050	4069	Exón 10	AAAAAGGTCTGCGATAAATG	15	300467	300486	110
533115	n/a	n/a	Intrón 1	CATGAAGGCCACTCTTCCAA	63	12777	12796	111
533116	n/a	n/a	Intrón 1	CCATGAAGGCCACTCTTCCA	78	12778	12797	112
533117	n/a	n/a	Intrón 1	CCCATGAAGGCCACTCTTCC	71	12779	12798	113
533118	n/a	n/a	Intrón 1	TGCCCATGAAGGCCACTCTT	66	12781	12800	114

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533119	n/a	n/a	Intrón 1	TTGCCCATGAAGGCCACTCT	60	12782	12801	115
533120	n/a	n/a	Intrón 1	GTTGCCCATGAAGGCCACTC	74	12783	12802	116
533121	n/a	n/a	Intrón 1	GGTCTTTCATGAATCAAGCT	79	17927	17946	117
533122	n/a	n/a	Intrón 1	TGGCTTTTCATGAATCAAGC	83	17928	17947	118
533123	n/a	n/a	Intrón 1	ATGGTCTTTCATGAATCAAG	83	17929	17948	119
533124	n/a	n/a	Intrón 1	TGATGGTCTTTCATGAATCA	78	17931	17950	120
533125	n/a	n/a	Intrón 1	CTGATGGTCTTTCATGAATC	82	17932	17951	121
533126	n/a	n/a	Intrón 1	GCTGATGGTCTTTCATGAAT	74	17933	17952	122
533127	n/a	n/a	Intrón 1	GTACCCAAACCAACACTAAT	57	18727	18746	123
533128	n/a	n/a	Intrón 1	TGTACCCAAACCAACACTAA	65	18728	18747	124
533129	n/a	n/a	Intrón 1	ATGTACCCAAACCAACACTA	64	18729	18748	125
533130	n/a	n/a	Intrón 1	GACATGTACCCAAACCAACA	63	18732	18751	126
533131	n/a	n/a	Intrón 1	AGACATGTACCCAAACCAAC	81	18733	18752	127
533132	n/a	n/a	Intrón 1	AGGAATGGAAACCAAAATAT	49	26494	26513	128
533133	n/a	n/a	Intrón 1	CAGGAATGGAAACCAAAATA	74	26495	26514	129
						121986	122005	
533134	n/a	n/a	Intrón 1	TCAGGAATGGAAACCAAAAT	73	26496	26515	130
						121987	122006	
533135	n/a	n/a	Intrón 1	ACTCAGGAATGGAAACCAAA	77	26498	26517	131
						113032	113051	
						121989	122008	

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533136	n/a	n/a	Intrón 1	AACTCAGGAATGGAAAACCA	79	26499	26518	132
						113033	113052	
						121990	122009	
533137	n/a	n/a	Intrón 1	TAACTCAGGAATGGAAAACC	67	26500	26519	133
						113034	113053	
						121991	122010	
533138	n/a	n/a	Intrón 1	CAAAATTACTGCAGTCACAG	67	39716	39735	134
533139	n/a	n/a	Intrón 1	ACAAAATTACTGCAGTCACA	81	39717	39736	135
533140	n/a	n/a	Intrón 1	TACAAAATTACTGCAGTCAC	81	39718	39737	136
533141	n/a	n/a	Intrón 1	CATACAAAATTACTGCAGTC	67	39720	39739	137
533142	n/a	n/a	Intrón 1	ACATACAAAATTACTGCAGT	48	39721	39740	138
533143	n/a	n/a	Intrón 1	AACATACAAAATTACTGCAG	53	39722	39741	139
533144	n/a	n/a	Intrón 1	TTTTAGTATGAACCTTAAAA	0	42139	42158	140
533145	n/a	n/a	Intrón 1	CTTTTAGTATGAACCTTAAA	38	42140	42159	141
533146	n/a	n/a	Intrón 1	TCCTTTAGTATGAACCTTAA	57	42141	42160	142
533147	n/a	n/a	Intrón 1	AATCTTTTAGTATGAACCTT	60	42143	42162	143
533148	n/a	n/a	Intrón 1	CAATCTTTTAGTATGAACCT	70	42144	42163	144
533149	n/a	n/a	Intrón 1	ACAATCTTTTAGTATGAACC	60	42145	42164	145
533150	n/a	n/a	Intrón 1	AAGTTATGTGACTCTGAGCA	67	43174	43193	146
533151	n/a	n/a	Intrón 1	CAAGTTATGTGACTCTGAGC	67	43175	43194	147
533152	n/a	n/a	Intrón 1	TCAAGTTATGTGACTCTGAG	63	43176	43195	148
533153	n/a	n/a	Intrón 1	AGTTCTCCATTAGGGTTCTG	83	50948	50967	149
533154	n/a	n/a	Intrón 1	TAGTTCTCCATTAGGGTTCT	76	50949	50968	150

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533155	n/a	n/a	Intrón 1	ATAGTTCTCCATTAGGGTTC	51	50950	50969	151
533156	n/a	n/a	Intrón 1	AAGCAGGTTGGCAGACAGAC	79	53467	53486	152
533157	n/a	n/a	Intrón 1	GAAGCAGGTTGGCAGACAGA	60	53468	53487	153
533158	n/a	n/a	Intrón 1	GGAAGCAGGTTGGCAGACAG	67	53469	53488	154
533159	n/a	n/a	Intrón 1	TCTTCTTGAGCTGGCTTC	61	64882	64901	155
533160	n/a	n/a	Intrón 1	GTCCTTCTTGAGCTGGCTT	83	64883	64902	156
533161	n/a	n/a	Intrón 1	AGTCTTCTTGAGCTGGCT	81	64884	64903	157

Tabla 4

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533133	n/a	n/a	Intrón 1	CAGGAATGGAAAACCAAATA	76	26495	26514	129
						121986	122005	
533134	n/a	n/a	Intrón 1	TCAGGAATGGAAAACCAAAT	83	26496	26515	130
						121987	122006	
533174	n/a	n/a	Intrón 1	TAAGTCTTCTTGTGAGCTGG	73	64886	64905	158
533175	n/a	n/a	Intrón 1	TTAAGTCTTCTTGTGAGCTG	58	64887	64906	159
533176	n/a	n/a	Intrón 1	ATTAAGTCTTCTTGTGAGCT	51	64888	64907	160
533177	n/a	n/a	Intrón 1	TCTCTTCCACTCACATCCAT	72	65989	66008	161
533178	n/a	n/a	Intrón 1	GTCTCTTCCACTCACATCCA	86	65990	66009	162
533179	n/a	n/a	Intrón 1	AGTCTCTTCCACTCACATCC	80	65991	66010	163
533180	n/a	n/a	Intrón 1	TAAGTATTGTAGCAGTTGC	31	78195	78214	164
533181	n/a	n/a	Intrón 1	CTAAGTATTGTAGCAGTTG	14	78196	78215	165
533182	n/a	n/a	Intrón 1	GCTAAGTATTGTAGCAGTT	59	78197	78216	166
533183	n/a	n/a	Intrón 1	TGGCTAAGTATTGTAGCAG	34	78199	78218	167
533184	n/a	n/a	Intrón 1	TTGGCTAAGTATTGTAGCA	18	78200	78219	168
533185	n/a	n/a	Intrón 1	TTTGGCTAAGTATTGTAGC	21	78201	78220	169
533186	n/a	n/a	Intrón 1	AAAA TGTC AACAGTG CATAG	61	80636	80655	170
533187	n/a	n/a	Intrón 1	CAAAATGTCAACAGTG CATATA	78	80637	80656	171
533188	n/a	n/a	Intrón 1	CCAAAATGTCAACAGTG CAT	85	80638	80657	172
533189	n/a	n/a	Intrón 1	GCCCCAAAATGTCAACAGTGC	82	80640	80659	173
533190	n/a	n/a	Intrón 1	GGCCCCAAAATGTCAACAGTG	60	80641	80660	174
533191	n/a	n/a	Intrón 1	TGGCCCCAAAATGTCAACAGT	31	80642	80661	175
533192	n/a	n/a	Intrón 1	CAGAATCTTCTCTTTGGCCA	66	98624	98643	176
533193	n/a	n/a	Intrón 1	GCAGAATCTTCTCTTTGGCC	81	98625	98644	177

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533194	n/a	n/a	Intrón 1	TGCAGAATCTTCTCTTTGGC	72	98626	98645	178
533195	n/a	n/a	Intrón 1	TTTGCAGAAATCTTCTCTTTG	33	98628	98647	179
533196	n/a	n/a	Intrón 1	ATTTGCAGAAATCTTCTCTTT	27	98629	98648	180
533197	n/a	n/a	Intrón 1	AATTTGCAGAAATCTTCTCTT	38	98630	98649	181
533198	n/a	n/a	Intrón 1	ATAAAGCTATGCCATAAAGC	37	99478	99497	182
533199	n/a	n/a	Intrón 1	CATAAAGCTATGCCATAAAG	14	99479	99498	183
533200	n/a	n/a	Intrón 1	CCATAAAGCTATGCCATAAA	30	99480	99499	184
533201	n/a	n/a	Intrón 1	GACCATAAAGCTATGCCATA	54	99482	99501	185
533202	n/a	n/a	Intrón 1	TGACCATAAAGCTATGCCAT	64	99483	99502	186
533203	n/a	n/a	Intrón 1	CTGACCATAAAGCTATGCCA	61	99484	99503	187
533204	n/a	n/a	Intrón 1	CAAAAAGTTGAGCTGAGAAA	0	101078	101097	188
533205	n/a	n/a	Intrón 1	CCAAAAAGTTGAGCTGAGAA	28	101079	101098	189
533206	n/a	n/a	Intrón 1	CCCAAAAAGTTGAGCTGAGA	52	101080	101099	190
533207	n/a	n/a	Intrón 1	CACCCAAAAAGTTGAGCTGA	60	101082	101101	191
533208	n/a	n/a	Intrón 1	ACACCCAAAAAGTTGAGCTG	34	101083	101102	192
533209	n/a	n/a	Intrón 1	TACACCCAAAAAGTTGAGCT	36	101084	101103	193
533210	n/a	n/a	Intrón 1	CTTTTAATGGCACCCCAAGCA	41	103566	103585	194
533211	n/a	n/a	Intrón 1	GCTTTTAATGGCACCCCAAGC	54	103567	103586	195
533212	n/a	n/a	Intrón 1	TGCTTTTAATGGCACCCCAAG	67	103568	103587	196
533213	n/a	n/a	Intrón 1	AATGCTTTTAATGGCACCCCA	73	103570	103589	197
533214	n/a	n/a	Intrón 1	AAATGCTTTTAATGGCACCCC	73	103571	103590	198
533215	n/a	n/a	Intrón 1	GAAATGCTTTTAATGGCACCC	41	103572	103591	199
533216	n/a	n/a	Intrón 1	TAATTCTTAAGGGCCCTCTG	36	106963	106982	200

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533217	n/a	n/a	Intrón 1	ATAATTCCTTAAGGGCCCTCT	45	106964	106983	201
533218	n/a	n/a	Intrón 1	CATAATTCCTTAAGGGCCCTC	50	106965	106984	202
533219	n/a	n/a	Intrón 1	AGCATAATTCCTTAAGGGCCC	48	106967	106986	203
533220	n/a	n/a	Intrón 1	TAGCATAAATTCCTTAAGGGCC	52	106968	106987	204
533221	n/a	n/a	Intrón 1	TTAGCATAAATTCCTTAAGGGC	28	106969	106988	205
533222	n/a	n/a	Intrón 1	AGGAATGGAAAAACCAACAT	13	113028	113047	206
533223	n/a	n/a	Intrón 1	CAGGAATGGAAAAACCAACA	64	113029	113048	207
533224	n/a	n/a	Intrón 1	TCAGGAATGGAAAAACCAAAC	61	113030	113049	208
533225	n/a	n/a	Intrón 1	AGGAATGGAAAAACCAATAC	18	121985	122004	209
533226	n/a	n/a	Intrón 1	CATGACTATGTTCTGGCAAG	37	125591	125610	210
533227	n/a	n/a	Intrón 1	ACATGACTATGTTCTGGCAA	44	125592	125611	211
533228	n/a	n/a	Intrón 1	CACATGACTATGTTCTGGCA	63	125593	125612	212
533229	n/a	n/a	Intrón 1	GTCACATGACTATGTTCTGG	47	125595	125614	213
533230	n/a	n/a	Intrón 1	GGTCACATGACTATGTTCTG	49	125596	125615	214
533231	n/a	n/a	Intrón 1	TGGTCACATGACTATGTTCT	30	125597	125616	215
533232	n/a	n/a	Intrón 2	CTGAATTCGAGCTCTGGAA	73	145428	145447	216
533233	n/a	n/a	Intrón 2	CCTGAATTCGAGCTCTGGA	88	145429	145448	217
533234	n/a	n/a	Intrón 2	GCCTGAATTCGAGCTCTGG	92	145430	145449	218
533235	n/a	n/a	Intrón 2	AAGCCTGAATTCGAGCTCT	83	145432	145451	219
533236	n/a	n/a	Intrón 2	CAAGCCTGAATTCGAGCTC	68	145433	145452	220
533237	n/a	n/a	Intrón 2	ACAAGCCTGAATTCGAGCT	81	145434	145453	221
533238	n/a	n/a	Intrón 2	GGATCTCAGCTGCAATTC	72	146235	146254	222
533239	n/a	n/a	Intrón 2	AGGATCTCAGCTGCAATTC	53	146236	146255	223

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533240	n/a	n/a	Intrón 2	GAGGATCTCAGCTGCAATTC	69	146237	146256	224
533241	n/a	n/a	Intrón 2	CAGAGGATCTCAGCTGCAAT	69	146239	146258	225
533242	n/a	n/a	Intrón 2	GCAGAGGATCTCAGCTGCAA	76	146240	146259	226
533243	230	249	Exón 2	AAAAGCATCACTTGATCCTG	23	145014	145033	227

Tabla 5

Inhibición de ARNm de GHR por 3-10-4 MOE gapmers dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
539284	206	222	Exón 2	CAAGGTCAACAGCAGCT	62	144990	145006	228
539285	207	223	Exón 2	CCAAGGTCAACAGCAGC	74	144991	145007	229
539286	208	224	Exón 2	GCCAAGGTCAACAGCAG	73	144992	145008	230
539290	869	885	Exón 7	TCTCACACGCACTTCAT	29	290367	290383	231
539291	870	886	Exón 7	ATCTCACACGCACTTCA	51	290368	290384	232
539292	871	887	Exón 7	GATCTCACACGCACTTC	56	290369	290385	233
539299	n/a	n/a	Intrón 1	CTTTCATGAATCAAGCT	63	17927	17943	234
539300	n/a	n/a	Intrón 1	TCTTTCATGAATCAAGC	49	17928	17944	235
539301	n/a	n/a	Intrón 1	GTCTTTCATGAATCAAG	61	17929	17945	236
539302	n/a	n/a	Intrón 1	GGTCTTTCATGAATCAA	93	17930	17946	237
539303	n/a	n/a	Intrón 1	ATGGTCTTTCATGAATC	74	17932	17948	238
539304	n/a	n/a	Intrón 1	GATGGTCTTTCATGAAT	56	17933	17949	239
539305	n/a	n/a	Intrón 1	TATATCAATATTCTCCC	42	21820	21836	240
539306	n/a	n/a	Intrón 1	TTATATCAATATTCTCC	33	21821	21837	241
539307	n/a	n/a	Intrón 1	GTTATATCAATATTCTC	12	21822	21838	242
539308	n/a	n/a	Intrón 1	TTTCTTTAGCAATAGTT	21	22518	22534	243
539309	n/a	n/a	Intrón 1	CTTCTTTAGCAATAGT	38	22519	22535	244
539310	n/a	n/a	Intrón 1	GCTTCTTTAGCAATAG	39	22520	22536	245
539311	n/a	n/a	Intrón 1	AGGAATGGAAAACCAAA	18	26497	26513	246
						113031	113047	
						121988	122004	
539312	n/a	n/a	Intrón 1	CAGGAATGGAAAACCAA	40	26498	26514	247
						113032	113048	
						121989	122005	
539313	n/a	n/a	Intrón 1	TCAGGAATGGAAAACCA	49	26499	26515	248
						113033	113049	
						121990	122006	
539314	n/a	n/a	Intrón 1	TCTCCATTAGGGTTCTG	87	50948	50964	249
539315	n/a	n/a	Intrón 1	TTCTCCATTAGGGTTCT	57	50949	50965	250
539316	n/a	n/a	Intrón 1	GTTCTCCATTAGGGTTC	73	50950	50966	251
539317	n/a	n/a	Intrón 1	AGGTTGGCAGACAGACA	73	53466	53482	252
539318	n/a	n/a	Intrón 1	CAGGTTGGCAGACAGAC	84	53467	53483	253
539319	n/a	n/a	Intrón 1	GCAGGTTGGCAGACAGA	85	53468	53484	254
539320	n/a	n/a	Intrón 1	CTTCTTGAGCTGGCT	87	64884	64900	255

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por 3-10-4 MOE gapmers dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2

	Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
5	539321	n/a	n/a	Intrón 1	TCTTCTTGAGCTGGC	89	64885	64901	256
10	539322	n/a	n/a	Intrón 1	GTCTTCTTGAGCTGG	87	64886	64902	257
	539323	n/a	n/a	Intrón 1	AGTCTTCTTGAGCTG	70	64887	64903	258
	539324	n/a	n/a	Intrón 1	TCTTCCACTCACATCCA	65	65990	66006	259
15	539325	n/a	n/a	Intrón 1	CTCTTCCACTCACATCC	78	65991	66007	260
	539326	n/a	n/a	Intrón 1	TCTCTTCCACTCACATC	68	65992	66008	261
	539327	n/a	n/a	Intrón 1	GTCTCTTCCACTCACAT	74	65993	66009	262
20	539328	n/a	n/a	Intrón 1	ATAGATTTTGACTTCCC	57	72107	72123	263
	539329	n/a	n/a	Intrón 1	CATAGATTTTGACTTCC	35	72108	72124	264
	539330	n/a	n/a	Intrón 1	GCATAGATTTTGACTTC	53	72109	72125	265
25	539331	n/a	n/a	Intrón 1	AAAATGTCAACAGTGCA	86	80639	80655	266
	539332	n/a	n/a	Intrón 1	CAAAATGTCAACAGTGC	73	80640	80656	267
	539333	n/a	n/a	Intrón 1	CCAAAATGTCAACAGTG	34	80641	80657	268
30	539334	n/a	n/a	Intrón 1	CCCAAAATGTCAACAGT	66	80642	80658	269
	539335	n/a	n/a	Intrón 1	CATGACTATGTTCTGGC	67	125594	125610	270
	539336	n/a	n/a	Intrón 1	ACATGACTATGTTCTGG	42	125595	125611	271
35	539337	n/a	n/a	Intrón 1	CACATGACTATGTTCTG	29	125596	125612	272
	539338	n/a	n/a	Intrón 2	GAATTCTGAGCTCTGGA	77	145429	145445	273
	539339	n/a	n/a	Intrón 2	TGAATTCTGAGCTCTGG	84	145430	145446	274
40	539340	n/a	n/a	Intrón 2	CTGAATTCTGAGCTCTG	80	145431	145447	275
	539341	n/a	n/a	Intrón 2	CCTGAATTCTGAGCTCT	84	145432	145448	276
	539342	n/a	n/a	Intrón 2	GCCTGAATTCTGAGCTC	84	145433	145449	277
45	539343	n/a	n/a	Intrón 2	AGCCTGAATTCTGAGCT	80	145434	145450	278
	539344	n/a	n/a	Intrón 2	ATATTGTAATTCTTGGT	0	148059	148075	279
	539345	n/a	n/a	Intrón 2	GATATTGTAATTCTTGG	20	148060	148076	280
50	539346	n/a	n/a	Intrón 2	TGATATTGTAATTCTTG	13	148061	148077	281
	539347	n/a	n/a	Intrón 2	CTGATATTGTAATTCTT	8	148062	148078	282
	539348	n/a	n/a	Intrón 2	CCTGATATTGTAATTCT	67	148063	148079	283
55	539349	n/a	n/a	Intrón 2	GCCTGATATTGTAATTC	73	148064	148080	284
	539350	n/a	n/a	Intrón 2	TGCCTGATATTGTAATT	32	148065	148081	285
	539351	n/a	n/a	Intrón 2	AATTATGTGCTTTGCC	58	148907	148923	286
60	539352	n/a	n/a	Intrón 2	CAATTATGTGCTTTGCC	82	148908	148924	287
	539353	n/a	n/a	Intrón 2	TCAATTATGTGCTTTGC	68	148909	148925	288
	539354	n/a	n/a	Intrón 2	GTCAATTATGTGCTTTG	80	148910	148926	289
65	539355	n/a	n/a	Intrón 2	GCCATCACCAACACCA	94	150972	150988	290

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por 3-10-4 MOE gapmers dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
539356	n/a	n/a	Intrón 2	TGCCATCACCAAACACC	84	150973	150989	291
539357	n/a	n/a	Intrón 2	TTGCCATCACCAAACAC	74	150974	150990	292
539358	n/a	n/a	Intrón 2	TGGTGACTCTGCCTGAT	85	151387	151403	293
539359	n/a	n/a	Intrón 2	CTGGTGACTCTGCCTGA	86	151388	151404	294

Tabla 6

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO	
523561	TATTTTCAGAAAGACTTTCTG	11	10373	10392	295	
523562	AGGAAAAAATCAAGGAGTTA	8	11173	11192	296	
523563	TATTTACTGAACACCTATTC	12	11973	11992	297	
523564	GCCCATGAAGGCCACTCTTC	70	12780	12799	298	
523565	ACCTATAAATAAAGTGAGGA	0	13581	13600	299	
523566	GTTTCATAACCTGCTAATAA	40	14451	14470	300	
523567	ATGTGCCTTACAGTTATCAG	36	15251	15270	301	
523568	TTCTGAATTTAGAATTATAG	0	16051	16070	302	
523569	GTTTATAATCTAGCAGTTAC	26	17130	17149	303	
523570	GATGGTCTTTCATGAATCAA	62	17930	17949	304	
523571	CATGTACCCAAACCAACACT	65	18730	18749	305	
523572	TAAATACAGCCTACATCAT	0	19637	19656	306	
523573	CCATCACTACAACAACTCA	39	20451	20470	307	
523574	ATCTGAAATGATCCCCTTTC	33	21283	21302	308	
523575	TGTTGCCCTCCAAAAAGAC	12	22144	22163	309	
523576	ATTAAAAATTTAAATGATGT	0	22944	22963	310	
523577	CTCAGGAATGGAAAACCAAA	71	26497	26516	311	
			113031	113050		
			121988	122007		
523578	AAAATTCTAGAAGATAACAT	0	27838	27857	312	
523579	CTAGAAGTCCTAGCCAGAGT	2	28748	28767	313	
523580	AACCGATATCACAGAAATAC	0	29548	29567	314	
523581	AAGATAGACAGTAACATAAT	0	30348	30367	315	
523582	GCACTACAAGAACTGCTTAA	40	31172	31191	316	
523583	TTTCCAGACAAAGAATTCAG	6	31978	31997	317	
523584	GTAGACAGCCTTTCTGGAAC	20	32827	32846	318	

ES 2 787 600 T3

(continuación)

5	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	523585	CATCCTACATAGTGGCTGTG	47	33635	33654	319
	523586	CAGAACAGTGTGTGGAGACT	8	34452	34471	320
	523587	AGCTTTAAAAATACCTCTGC	52	35466	35485	321
	523588	CCCAGGTACTTGCTCTCAGA	22	36266	36285	322
15	523589	TTACACCTGATTCTAGAAAT	30	37066	37085	323
	523590	CTTTTCTCTACAACCTCACA	34	38094	38113	324
	523591	TAGTAGTTTGAATTTCAAAG	1	38909	38928	325
	523592	ATACAAAATTACTGCAGTCA	60	39719	39738	326
20	523593	GCCACTGCCAAAAAGGAGGA	30	40519	40538	327
	523594	TGACAGAAACAGAGCTATGA	33	41342	41361	328
	523595	ATCTTTTAGTATGAACCTTA	65	42142	42161	329
	523596	AGTTATGTGACTCTGAGCAC	63	43173	43192	330
25	523597	ACTATGCCCTAGTTACTTCT	29	43973	43992	331
	523598	TATAGTGGAAGTGATAGATC	0	44812	44831	332
	523599	TGTTTTCTGAAATGGAATGT	0	45733	45752	333
	523600	GCTGTAAATGTAATGAGTGT	34	46553	46572	334
30	523601	GAGAGAAGCCATGGCCCTAG	20	47392	47411	335
	523602	CTCTCTTTCCCAGAACAAGA	32	48210	48229	336
	523603	TCCAAAATGTCCAGTATAAT	33	50072	50091	337
	523604	GTTCTCCATTAGGGTTCTGG	74	50947	50966	338
35	523605	TTAGTCACCCATCCACCACT	41	51747	51766	339
	523606	CATGAATTCACCGAGTTAGG	51	52573	52592	340
	523607	AGCAGGTTGGCAGACAGACA	62	53466	53485	341
	523608	GAAAGACTTAAATTTTCACA	0	54306	54325	342
40	523609	TAGTAGAGGAAAAGGAGAAT	0	55730	55749	343
	523610	AAACAGGGTCTGGAGTGGAC	3	61243	61262	344
	523611	CAAGCTGATAATTA AAAAGA	0	62462	62481	345
	523612	ATAAAGATACATTTTCTGGG	8	63277	63296	346
45	523613	CAGGATTCTTCCTGCCTGGC	47	64085	64104	347
	523614	AAGTCTTCTTGTGAGCTGGC	71	64885	64904	348
	523615	CTCTTCCACTCACATCCATT	63	65988	66007	349
	523616	CCTATATCAGAAGACAAATG	5	66806	66825	350
50	523617	TCAAAACCCTGCCAAGGTAC	44	67662	67681	351
	523618	TCATATTCTACTTCTGTTTA	11	68462	68481	352
	523619	CATTCCAGTGTTTCAGTAAG	13	69262	69281	353
	523620	GGCCTGGAATTAATCCTCAG	49	70114	70133	354

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523621	AATGCCCTCTCCCTGTGCCT	48	70925	70944	355
523622	TTTATAATCAACCTTTGCTA	9	71741	71760	356
523623	ATATACTACTTAAAATAAT	0	72541	72560	357
523624	TTAGCCAGGATATGGTTGCC	50	73350	73369	358
523625	CTACCTCCATCAAAGAAAAT	0	74190	74209	359
523626	GCATGCATAGATAAGTTTGA	20	74990	75009	360
523627	ATGAGAGTAAATGGATTTTC	10	75790	75809	361
523628	TTGGCAATCCTTGCTTAAAA	34	76598	76617	362
523629	GAATTAAGCCAGACTTATTT	3	77398	77417	363
523630	GGCTAAGTATTTGTAGCAGT	55	78198	78217	364
523631	TTGCCTGTGTGCAACTGGCG	0	79005	79024	365
523632	GTGGCCTTAGTAGGCCAGCT	0	79827	79846	366
523633	CCCAAATGTCAACAGTGCA	70	80639	80658	367
523634	TTAAGCCTTCAATTTGAAAA	0	81455	81474	368
523635	TGCTCAGAAGGTTGAGCATA	0	82261	82280	369
523636	TTAATGCTTTCCCAAAGCTC	35	83061	83080	370
523637	AAAAGACTTCATACCTTTAC	52	83884	83903	371

Tabla 7

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532146	GGCCCCCTGGCACAACAGGA	60	3097	3116	372
532147	TCTAGGGTGATTCAGGTGGA	62	4537	4556	373
532148	CTTAGATTAATGCAAAACAA	25	4875	4894	374
532149	AGGCAGAGGAGGGTGAACC	34	6246	6265	375
532150	AGTCTAATGAGATCTGATGG	76	6499	6518	376
532151	GCTGAAATGAGTTAAGACTT	89	6737	6756	377
532152	ACTTTGGACTGTGGATTTTT	78	6765	6784	378
532153	GCATATTTACACAATGCCTG	84	6871	6890	379
532154	GGAAATGCCTGGATGTCCAG	27	7241	7260	380
532155	CTGCTGATTTTGGAATGGAG	68	10660	10679	381
532156	ACTGAACACCTATTCTATGG	51	11968	11987	382
532157	TTTACTGAACACCTATTCTA	23	11971	11990	383
532158	CCCTCAAATTATCCACAAAC	89	12053	12072	384
532159	CTTCTAAATGTTTCCAAGGC	63	12186	12205	385

(continuación)

	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	532160	TTACATCCTGTAGGCTAATT	82	12469	12488	386
	532161	CCACTAGCCTGGCCAGACTT	73	12487	12506	387
10	532162	CTGGTAGATGATCTCAAGTT	84	13351	13370	388
	532163	AAAGAATTGAGTTATAAATC	23	13670	13689	389
	532164	AACTCATCTCTGGCCAGCAG	89	14361	14380	390
15	532165	CAACATCATTGTATTTTCTG	33	14965	14984	391
	532166	TCTTAGCTTACCAATGAGGA	81	15085	15104	392
	532167	TTCCCAGAGCCAAAGCTCAA	77	15982	16001	393
20	532168	TTTGGCCAATCCCAGCTTAT	59	16253	16272	394
	532169	GTTTGCAAATCTTCATTAC	71	16447	16466	395
	532170	CAATAGTCCCTGAGGCTTGG	74	16476	16495	396
25	532171	TTTCCCAGATTAAATGCC	85	17650	17669	397
	532172	TTCAATAATGCAGTTATTAT	0	18308	18327	398
	532173	AAATTCTTGGGCTTAAGCAC	69	18638	18657	399
30	532174	ACATGTACCCAAACCAACAC	71	18731	18750	91
	532175	TGATCCAAATTCAGTACCTA	82	18752	18771	400
	532176	GATGATCCAAATTCAGTACC	54	18754	18773	401
35	532177	CAATATTCATCTTTATATTC	25	19106	19125	402
	532178	ATTGCTCTTAAGATAAGTAA	41	19661	19680	403
	532179	CAGCTCCCTGAATATCTCTT	74	19783	19802	404
40	532180	ACTTCACAAATATATTATAA	0	19885	19904	405
	532181	GTACAGTCAACTTTACTTCA	89	19899	19918	406
	532182	CAATTCCCACTCTTGTC AAC	55	20288	20307	407
45	532183	TCAACTGCTTTCTGGAGCAG	66	21215	21234	408
	532184	ACTGCTGAGCACCTCCAAAA	73	21454	21473	409
	532185	CTTAGATTCTGGTTTATCA	78	21587	21606	410
50	532186	AGTTATATCAATATTCTCCC	88	21820	21839	411
	532187	TATACCATCTTCCCCATAAA	32	22038	22057	412
	532188	GGCTTTCTTTAGCAATAGTT	86	22518	22537	413
55	532189	TACCAGGGATGTAGGTTTAC	82	29050	29069	414
	532190	TCACAGCTGAATTCTATCTG	80	29323	29342	415
	532191	GGAGATGGACAAATTCCTGC	77	29470	29489	416
60	532192	CTAGACATGTCATCAAGACA	19	30294	30313	417
	532193	CAAATTAATAAAACAATTAC	10	30385	30404	418
	532194	TATTCTTATATCAGACAAAA	30	30532	30551	419
65	532195	TCAAGGGATCCCTGCCATTC	32	32361	32380	420

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2						
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	532196	CGTCAAGGGATCCCTGCCAT	47	32363	32382	421
	532197	GGCACTCCCAGTCTCCAGCT	83	34138	34157	422
	532198	TTTCTCCAGCAGAAGTGTCA	60	34845	34864	423
15	532199	AAGTCCTCTTCCGCCTCCCT	82	36023	36042	424
	532200	GGAATTTACCAAAAACAGTT	63	36721	36740	425
	532201	AGTTAGGTATTGTCCATTTT	74	37032	37051	426
20	532202	ACATGGGTATCTTCTAGGAA	77	37111	37130	427
	532203	TCAGTTTCAGAGAGACAAAA	41	37276	37295	428
	532204	TTTGCCAGGTCCTATGTCTGA	69	37656	37675	429
25	532205	ATTCCCTTTTCTCTACAACC	70	38099	38118	430
	532206	ATGATAAGAGCCAAGATTTG	13	38994	39013	431
	532207	GAAAAAAGGTCCACTGTGGT	49	40356	40375	432
30	532208	CCTGTCCTGGAATAGTTTCA	49	41164	41183	433
	532209	TAGAAAAGTAAATAAGGAAT	15	41501	41520	434
	532210	TTATAAACTATGCAATAGG	0	41889	41908	435
35	532211	TTATTTTCATATTTCCAGAAA	0	42675	42694	436
	532212	CATGAATTACAGCTAAAGAT	20	42741	42760	437
	532213	TTGCATGTATGTGTTTCTGA	62	43518	43537	438
40	532214	TCAATCTCTTTATACCCCTTA	75	43765	43784	439
	532215	TCTTCAATCTCTTTATACCC	58	43768	43787	440
	532216	CTATGCCCTAGTTACTTCTA	47	43972	43991	441
45	532217	AAAGAGAATCTCTTCCTTTT	27	44070	44089	442
	532218	TCATTAAAGATTATTATAAC	0	44222	44241	443
	532219	TTTGGATGAGTGGAAGGCTA	0	44528	44547	444
50	532220	GGAAATGGCCTTTTTCTTA	72	45400	45419	445
	532221	GGAGAAGCCCTCTGCCTGTA	60	46477	46496	446
	532222	AAACCATATTGTCCACCAGA	84	46510	46529	447

Tabla 8

55	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
60	532223	CTCAAACCATATTGTCCACC	90	46513	46532	448
	532224	GTGTAAATAGTGACTTGATC	76	50123	50142	449
	532225	TGAGGCACAGGAAAGTTAAC	52	50719	50738	450
	532226	AGCTATAGTTCTCCATTAGG	74	50954	50973	451

65

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2						
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	532227	TTACTTGCTGACTAAGCCAT	69	51071	51090	452
	532228	GTTTGTCAACTCAACATCAA	73	51215	51234	453
10	532229	GACTATTTGTATATATATAC	33	51491	51510	454
	532230	ATGACTATTTGTATATATAT	11	51493	51512	455
	532231	ACTCTTCCTTATATTTGCTC	76	51778	51797	456
15	532232	ATACACTGACTTTTAACATT	67	52039	52058	457
	532233	CTTAGAAACAGTAGTTTCAT	42	52124	52143	458
	532234	CTGAGCTTTGCCTTAAGAAT	79	52633	52652	459
20	532235	CACCAGACAGCAGGTAGAGC	81	53540	53559	460
	532236	GAGATGGAGTAGAAGGCAAA	43	55926	55945	461
	532237	TAGGAAAGGAAGAATACACT	33	63881	63900	462
25	532238	TAGACCAGGAAGGGTGAGAG	27	64376	64395	463
	532239	AAGTTGGATCTGGCATGCAT	64	64574	64593	464
	532240	AAAGTTGGATCTGGCATGCA	70	64575	64594	465
30	532241	CCATAACTCTTCTAACTGGG	84	64643	64662	466
	532242	ATATTAAAGTTTGAGAACTA	37	65080	65099	467
	532243	CTTAACTACAAAATGCTGGA	71	66164	66183	468
35	532244	TGAGCAGCTGTCCTCAGTTC	43	67061	67080	469
	532245	GAGTTCATAAAAGTTTTACT	26	67251	67270	470
	532246	CTATCCACACCATTCCATAA	73	69203	69222	471
40	532247	AACATCTAAGTAATGCAAAC	58	69223	69242	472
	532248	TTTGCATTCAAAGCCCTGGG	91	69565	69584	473
	532249	TCCATATTATAGGCTATGAT	73	69889	69908	474
45	532250	ATTTTATGATAATGTAAAC	27	69942	69961	475
	532251	GAGATCACATTTTCTGAGTA	50	70352	70371	476
	532252	ACCTCCCTAGGATTACCTCA	56	71617	71636	477
50	532253	AAAATCTGATTTATAATCAA	40	71750	71769	478
	532254	AGCATAGATTTTGACTTCCC	92	72107	72126	479
	532255	AAAGTCATATACACAGGTCT	53	72584	72603	480
55	532256	CTCATAGCAAATTCCCAGAA	66	73689	73708	481
	532257	CAACATGGAGGCTAGCATGT	55	74112	74131	482
	532258	AGACTAAGTGGCCTGAATGT	52	74317	74336	483
60	532259	ACCTACCATGTCACTCTCAA	61	74418	74437	484
	532260	AACTTTCTTGTTTATCA	9	75511	75530	485
	532261	TTTGCAAGACAAAGAAATGA	31	75915	75934	486
65	532262	CATGCAAAGTGTTCTCTTC	63	76024	76043	487

ES 2 787 600 T3

(continuación)

	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
5	Nº ISIS	Secuencia	% de	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 S parada	SEQ ID NO
	532263	AGTGCTTTGCTTTCTCTTAT	79	76047	76066	488
	532264	GAACAAGAAACACTTGGTAA	44	76555	76574	489
10	532265	AGTGTTCGAATTAAATGGCA	34	76643	76662	490
	532266	AAACAATGCCCTTGTAGTGA	57	76703	76722	491
	532267	TATTCTAGGTTTTGAGGTGA	60	76752	76771	492
15	532268	ATATTCTAGGTTTTGAGGTG	24	76753	76772	493
	532269	GTTTTCCATTCTTTAAGAAA	41	76896	76915	494
	532270	AGCAATCCATTGATTGTATG	59	77044	77063	495
20	532271	AATTATGGCAAAATGGAAAA	37	77076	77095	496
	532272	ACATTTGCTTATGAGACTAT	62	77638	77657	497
	532273	GCAGAGATAATCCTATGATG	42	77841	77860	498
25	532274	TCCATCTGTTACCTCTCTGT	77	78122	78141	499
	532275	TTTGCCTGAAGGGCAGAACC	40	79478	79497	500
	532276	GAAAAAATCAGATTTTCACA	0	79664	79683	501
30	532277	AACTTAATTTAATCATTTCT	0	79959	79978	502
	532278	TTTGGTTGTCATGAGTTGAG	67	80756	80775	503
	532279	TTCCATCTCTAGGGCACTTT	74	80900	80919	504
35	532280	AGAGCTTATTTTCAAAATTC	36	80920	80939	505
	532281	ATAAAGAGCAAACAAACATA	42	81524	81543	506
	532282	TATAAATTCCTTGGTCTGAT	33	82835	82854	507
40	532283	AAAATATAAATTCCTTGGTC	13	82839	82858	508
	532284	TTTTATAACAGCCTCTGACA	38	82959	82978	509
	532285	AAAAGACCATGTTGCTTATT	72	83179	83198	510
45	532286	ATAGTCAGTCAGAATGTGGT	72	83330	83349	511
	532287	TGCCTTAGCTTGAAAAGAC	78	83897	83916	512
	532288	AGGGCTAGCTGATGCCTCTC	69	84026	84045	513
50	532289	TTGGACTGGGCTCAAACAGA	72	84381	84400	514
	532290	AAAGTCAGGCTAGAGGGACT	49	85713	85732	515
	532291	TCCTTGTTTTCTTGTAATGA	50	85945	85964	516
55	532292	ACACCAGAGGAAGGAAATCA	44	86554	86573	517
	532293	GATGTACACCATTTTGAATT	15	86629	86648	518
	532294	TGCTCTGGCCTAGCCTATGT	62	86901	86920	519
60	532295	CAGAGGTGTCTCCCAAGAAA	60	89940	89959	520
	532296	AAAGAGAATGGATCAAAGCT	36	91930	91949	521
	532297	GATTTGCAGAACAAATCTTG	37	93332	93351	522
65	532298	TGGTTATGAAGGTTGGACCA	52	94839	94858	523

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532299	TGGCTAATTAATGGGCAATT	63	95292	95311	524

Tabla 9

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532300	CTGTGCCATATTGCCTCTAA	87	95471	95490	525
532301	GATTTCAACCAGCTCACCTG	48	95510	95529	526
532302	GCAAAAGGGAACCCTGAAGC	71	95564	95583	527
532303	CTAAGTGTTATAACAAACAC	43	96137	96156	528
532304	GTCCATTGGTATAAACTCA	84	96282	96301	529
532305	TTTCAATACAATAAGATTTA	34	96793	96812	530
532306	GTCCTTAGACCCCTCAATGG	62	96987	97006	531
532307	GAGGATTTATTCATCTAGGC	68	97806	97825	532
532308	CAGTGGGAGGATCAGATATC	46	97870	97889	533
532309	ATCCCATCCAGCAGCTGGAC	67	98132	98151	534
532310	AACTTGGGATGAGTTACTGA	56	98653	98672	535
532311	GAAGGCTACCTAAAAGAAAT	43	98810	98829	536
532312	AAAGAAATATTCACAACATT	39	99096	99115	537
532313	ATGCTTATACTGCTGCTGTA	69	99791	99810	538
532314	TCCTCACTTCAATCACCTTT	70	99819	99838	539
532315	CTCTTTCTTCATAAATAAGT	33	100809	100828	540
532316	TGGTAATCTGTGTCCCTTTA	96	101242	101261	541
532317	TAATAAAAAAGTTTGAAACA	41	102549	102568	542
532318	GGTGGTGGCAAGAGAAAAAT	56	103015	103034	543
532319	CAAAAGGCCCTTTTACATG	28	103034	103053	544
532320	ACTCTACTGGTACCAATTTA	31	103173	103192	545
532321	TCTGAACTTTTATGCTCTGT	76	103606	103625	546
532322	AACTTTTGCCTGGGCATCCA	16	104067	104086	547
532323	TGACTCCATGTCTCACATCC	66	104392	104411	548
532324	TTACTTCCTAGATACAACAG	53	104541	104560	549
532325	CTGGCCCCCATGATTCAATT	44	104835	104854	550
532326	AAGACTGGCCCCCATGATTC	49	104839	104858	551
532327	TGTCACTGGTCTGTGTATTT	60	106233	106252	552
532328	ACAGAGTAGATTTAGCATAA	23	106980	106999	553
532329	TAAACAGGTGTACTATTACA	27	107030	107049	554

(continuación)

	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	532330	GCTTTATCAACTAAGTTTAT	22	107716	107735	555
	532331	CAGAACTTCTTTTAAAATTG	8	107763	107782	556
10	532332	GAATACAGACATACCTTGAA	25	108514	108533	557
	532333	CCATGACAACAATTTTCAGAG	58	109486	109505	558
	532334	ACAAATAGCAATGAATGGGT	45	110878	110897	559
15	532335	CAACAAATAGCAATGAATGG	47	110880	110899	560
	532336	GTACACAAATCAGTAGCTCT	72	115087	115106	561
	532337	CTATGTCAAAAAGACTGAAA	4	116370	116389	562
20	532338	ATATACAGAACATTTTCATCC	13	116743	116762	563
	532339	AGAATAGATAAGAACTCACC	32	117195	117214	564
	532340	AGGAAAGATACAGTCATTTT	5	117507	117526	565
25	532341	GCACAAAGAACACCTGGGAA	43	117781	117800	566
	532342	CAAGAAGTCTGGGATTATGT	0	117938	117957	567
	532343	GTTAGTTATTAAGCTAATCA	48	118245	118264	568
30	532344	AACCATTATTTATAGGCTAA	14	119127	119146	569
	532345	CCAGAATGCGATCACTTCTT	76	120826	120845	570
	532346	CCAGAAATTATCCTCCTCTC	70	121209	121228	571
35	532347	AGGGAAATGCAAATTTAAAC	20	122479	122498	572
	532348	GCATCAAGATACAGAAAAAT	24	122751	122770	573
	532349	GAATGTTTATGAGATTTTTC	0	123571	123590	574
40	532350	GCCAATTATATTGCCACATT	23	124413	124432	575
	532351	ATACTTGCTTATGTAGAAAT	45	124589	124608	576
	532352	TAATACTTGCTTATGTAGAA	3	124591	124610	577
45	532353	GAACACATGGCATTCTGATA	36	125178	125197	578
	532354	CAGAAATTTGCAGTATAAATC	0	126051	126070	579
	532355	TATGTTTTGAAATCTTATTT	0	126157	126176	580
50	532356	ACTCACTGCTACCTCATTA	11	126998	127017	581
	532357	AAGCAGTGATAGGGTATCTG	59	127080	127099	582
	532358	ATGAGGCCTATTACAATGGA	14	127170	127189	583
55	532359	CTGGAGTCTCATGAGGCCTA	53	127180	127199	584
	532360	TGACTATCAGCCTTTTAATC	45	127663	127682	585
	532361	TTCAGAGAACAACCTTTGAA	0	127959	127978	586
60	532362	AGCCATGTGTGATCTGATGT	53	128813	128832	587
	532363	GAAATTTACTCCAAACTAGC	17	128992	129011	588
	532364	AACATCCAGACCACCATCTA	35	130094	130113	589
65	532365	GTACCAAACCATTCATGCTC	56	131036	131055	590

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 1 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532366	AGTACCAAACCATTCATGCT	24	131037	131056	591
532367	TTATAGAGCTTGAGATTGAC	7	132165	132184	592
532368	AGTCCATTATAGAGCTTGAG	58	132171	132190	593
532369	AACCATGAGATGCAATGCAG	40	132498	132517	594
532370	AGGATTGAGAATCGCTGATT	42	133168	133187	595
532371	TCTAAAGCATGGCCAGGATT	48	133182	133201	596
532372	GGGACTGAGTATTGATACTT	44	133222	133241	597
532373	AGAAGTAGGGTGTTCAGAT	29	133523	133542	598
532374	AGAAATAGTCTTCCTACTAA	0	133547	133566	599
532375	GCCTCCTTTAAGCTTCTATG	22	134240	134259	600
532376	GGCCTGCCTTTACTTTCCCA	36	134598	134617	601

Tabla 10

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523638	n/a	n/a	ACCTCAGTGGACTCTTTCCA	Intrón 1	4	84684	84703	602
523639	n/a	n/a	CAAACCTAAGTTCAAGTCCT	Intrón 1	62	85523	85542	603
523640	n/a	n/a	AGTTTCACTTCTTGAATCAA	Intrón 1	38	86373	86392	604
523641	n/a	n/a	AAGATCAAAATGAGGTCAAGG	Intrón 1	30	87181	87200	605
523642	n/a	n/a	TAGATACAAATTTCAATCACA	Intrón 1	23	88063	88082	606
523643	n/a	n/a	ATTCCTAAAAATAGGAGCAGG	Intrón 1	45	88870	88889	607
523644	n/a	n/a	TTTTTATGTTGTATAAGATA	Intrón 1	0	89670	89689	608
523645	n/a	n/a	GTTCAGCCAATACATGAGTA	Intrón 1	48	90473	90492	609
523646	n/a	n/a	CCAGAGGGAGTTCATTACCA	Intrón 1	62	91273	91292	610
523647	n/a	n/a	TCTCTCTAATTC AACCTTAT	Intrón 1	44	92107	92126	611
523648	n/a	n/a	ATAATCCTCAGACCTCTTTA	Intrón 1	29	92925	92944	612
523649	n/a	n/a	CACTGTGGCAGAAATCCAAAG	Intrón 1	28	93762	93781	613
523650	n/a	n/a	ACACCTTGGTGCCTAGAAAGC	Intrón 1	54	94581	94600	614
523651	n/a	n/a	GTAGCAATGACACCTAAGAA	Intrón 1	58	95394	95413	615
523652	n/a	n/a	TTTAAAAATAATAAATGCCTTA	Intrón 1	0	96194	96213	616
523653	n/a	n/a	TCATTTTGTCCTTAGACCCC	Intrón 1	27	96994	97013	617
523654	n/a	n/a	TTATTCAATCTAGGCCGAGTG	Intrón 1	57	97800	97819	618
523655	n/a	n/a	TTGCAGAATCTTCTCTTTGG	Intrón 1	65	98627	98646	619
523656	n/a	n/a	ACCAATAAGCTATGCCATAA	Intrón 1	63	99481	99500	620
523657	n/a	n/a	GGCAAGGAGCACAATAGGAC	Intrón 1	20	100281	100300	621
523658	n/a	n/a	ACCCAAAAAGTTGAGCTGAG	Intrón 1	66	101081	101100	622
523659	n/a	n/a	TAGATTTTCAGACTCTTTCT	Intrón 1	46	101887	101906	623
523660	n/a	n/a	AATTTCAATATTGTTGTGTT	Intrón 1	0	102760	102779	624
523661	n/a	n/a	ATGCTTTTAATGCGCACCCAA	Intrón 1	69	103569	103588	625

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523662	n/a	n/a	CATGTCACATCCAGGTCA	Intrón 1	37	104386	104405	626
523663	n/a	n/a	TTCAC TGGAGTAGACTTTTA	Intrón 1	45	105255	105274	627
523664	n/a	n/a	CTTATAAGGGAGGTCTGGTA	Intrón 1	41	106147	106166	628
523665	n/a	n/a	GCATAATTCTTAAGGGCCCT	Intrón 1	71	106966	106985	629
523666	n/a	n/a	CCACAGAACTTCTTTAAAA	Intrón 1	27	107766	107785	630
523667	n/a	n/a	GGTGACCATGATTTTAACAA	Intrón 1	25	108566	108585	631
523668	n/a	n/a	AACAGCTGCATGACAAATTTT	Intrón 1	50	109382	109401	632
523669	n/a	n/a	AGAAACAGAA TCAGTGACTT	Intrón 1	44	110403	110422	633
523670	n/a	n/a	CAGATTCAGAGAAAAAGCCA	Intrón 1	14	111203	111222	634
523671	n/a	n/a	TGTGAGAAGAAC TCTATCAC	Intrón 1	12	112030	112049	635
523672	n/a	n/a	CTCACAAATCACC ACTAAAG	Intrón 1	31	112842	112861	636
523673	n/a	n/a	CAACGAGTGGATAAAGAAAC	Intrón 1	28	113646	113665	637
523674	n/a	n/a	ATAAACTGGATCCTCATCT	Intrón 1	13	114446	114465	638
523675	n/a	n/a	ATTAAACTCTCAGCAAAAT	Intrón 1	0	115450	115469	639
523676	n/a	n/a	AAAGACTGAAA GAACACAAA	Intrón 1	0	116361	116380	640
523677	n/a	n/a	TATCTGCTGCCTTCAGGAGA	Intrón 1	0	117168	117187	641
523678	n/a	n/a	TTTGAATTAACCCAATTCAA	Intrón 1	0	117999	118018	642
523679	n/a	n/a	TCCTAATTTACAACAGAGGA	Intrón 1	25	118821	118840	643
523680	n/a	n/a	AGAAAAGTGACAGGCTTCCC	Intrón 1	31	119659	119678	644
523681	n/a	n/a	ATGTTCTCTGAAGATCCCAA	Intrón 1	37	120478	120497	645
523682	n/a	n/a	ATGAATAACACTTGCCACAA	Intrón 1	0	121379	121398	646
523683	n/a	n/a	GTATGTTTATCACAGCACAG	Intrón 1	56	122180	122199	647
523684	n/a	n/a	AAACACTGCAATATTAGGTT	Intrón 1	34	123031	123050	648

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523685	n/a	n/a	GATTGGTGCTTTTCAAAC TG	Intrón 1	39	123936	123955	649
523686	n/a	n/a	ATTTGTAAGACAAACATGAA	Intrón 1	9	124764	124783	650
523687	n/a	n/a	TCACATGACTATGTTCTGGC	Intrón 1	72	125594	125613	651
523688	n/a	n/a	AGTCCTGTCCACACTATTAA	Intrón 1	6	126415	126434	652
523689	n/a	n/a	CTGGGCTCTGCC TGCTGAAC	Intrón 1	17	127217	127236	653
523690	n/a	n/a	AAAACCCTTAAGTATTTCC T	Intrón 1	12	128054	128073	654
523691	n/a	n/a	CTCTGTTTCAAACCCCCCAG	Intrón 1	21	128854	128873	655
523692	n/a	n/a	GGACAGAACACCAATCACAA	Intrón 1	18	129654	129673	656
523693	n/a	n/a	ACCTACCCCTTCAAAGTCACG	Intrón 1	0	130486	130505	657
523694	n/a	n/a	TTCAGTTC CCAGGAGGCTTA	Intrón 1	5	131286	131305	658
523695	n/a	n/a	TTTTGCAATGCTAGCAATT	Intrón 1	0	132086	132105	659
523696	n/a	n/a	ATTAAGATCAGAAAAATATTA	Intrón 1	0	132953	132972	660
523697	n/a	n/a	TTAATGAGATATTTTGCACC	Intrón 1	34	133858	133877	661
523698	n/a	n/a	GAGAGGTTAAGTAAATCTCC	Intrón 1	0	134678	134697	662
523699	n/a	n/a	CAGACTCAAATTTGAAAA TT	Intrón 1	14	135500	135519	663
523700	n/a	n/a	GATAAGGCAATAATACAGCC	Intrón 1	1	136306	136325	664
523701	n/a	n/a	ATCATTTGCCAATTTCTGTG	Intrón 1	28	137133	137152	665
523702	n/a	n/a	CAAGAAGAAAAGATGCAAAA	Intrón 1	0	138035	138054	666
523703	n/a	n/a	AATTTATTTCCCTTCCTATGA	Intrón 1	0	138857	138876	667
523704	n/a	n/a	TTTTGGAAATGTGAGAAACG	Intrón 1	0	139771	139790	668
523705	n/a	n/a	AAACACATGAGAAAAAGATGA	Intrón 1	0	140593	140612	669
523706	n/a	n/a	TGTTGGCTCAGTGGGAATGA	Intrón 1	0	141412	141431	670
523707	n/a	n/a	TGAACAGGTTTGCAATTTCTC	Intrón 1	42	142229	142248	671

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2								
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 1 Sitio de parada	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523708	n/a	n/a	TCCTAGGTGAACAGGCTATG	Intrón 1	38	143029	143048	672
523709	n/a	n/a	CCCTAATCAGGCTGAAATAA	Intrón 1	0	143829	143848	673
523710	n/a	n/a	AGGGCCAGTAAGGTTTGCTT	Intrón 1	12	144631	144650	674
523711	n/a	n/a	AGCCTGAATTCTGAGCTCTG	Intrón 2	88	145431	145450	675
523712	n/a	n/a	AGAGGATCTCAGCTGCAATT	Intrón 2	71	146238	146257	676
523713	n/a	n/a	GAAATCCCTGCTCAAGTGC	Intrón 2	67	147262	147281	677
523714	n/a	n/a	TGCCTGATATTGTAATTCTT	Intrón 2	90	148062	148081	678

Tabla 11

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2							
5	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	532377	CTCATACAGTGAAGTCTTCA	Intrón 1	73	135431	135450	679
	532378	CTCACTAAGCTTGATTCACT	Intrón 1	67	135818	135837	680
	532379	GATACAGAAATCCCAGTGAC	Intrón 1	46	136111	136130	681
15	532380	TGTGCTTGGGTGTACAGGCA	Intrón 1	71	136282	136301	682
	532381	TCAAGCACTTACATCATATG	Intrón 1	42	136377	136396	683
	532382	AGGGTTAGTTATTACACTTA	Intrón 1	60	136576	136595	684
20	532383	AGGCTTCATGTGAGGTAACA	Intrón 1	58	136996	137015	685
	532384	TGAAAGCTTAGTACAAGAAG	Intrón 1	51	138048	138067	686
	532385	CTCTCCTCTTGGAGATCCAG	Intrón 1	58	138782	138801	687
25	532386	GCTGAGATTTCTCTCCTCTT	Intrón 1	78	138792	138811	688
	532387	CTTTTGCTGAGATTTCTCTC	Intrón 1	58	138797	138816	689
	532388	GAACATATGTCCATAGAATG	Intrón 1	57	141700	141719	690
30	532389	GAACAGGCTATGTAATCAAA	Intrón 1	68	143021	143040	691
	532390	TTTTTATTACTGTGCAAACC	Intrón 1	41	143878	143897	692
	532391	ACTGAGGGTGGAAATGGAAA	Intrón 2	23	145059	145078	693
35	532392	ATGCCATACTTTTCATTTCA	Intrón 2	87	146351	146370	694
	532393	TCTTTAAAGATTTCTATGC	Intrón 2	66	146367	146386	695
	532394	TCACAATTAATTATGTTTA	Intrón 2	47	149858	149877	696
40	532395	TTTGCCATCACCAAACACCA	Intrón 2	94	150972	150991	697
	532396	TCAGAATGCTGAAGGATGGG	Intrón 2	70	152208	152227	698
	532397	ACAATTGCAGGAGAGAACTG	Intrón 2	57	152296	152315	699
45	532398	GTTCAAGTCACCTGGAAAGAG	Intrón 2	62	152549	152568	700
	532399	CGGAGTTCAGTCACCTGGAA	Intrón 2	77	152553	152572	701
	532400	AATCTAAAGTTCAATGTCCA	Intrón 2	77	152752	152771	702
50	532401	CCACCTTTGGGTGAATAGCA	Intrón 2	95	153921	153940	703
	532402	CAACATCAAAAGTTTCCACC	Intrón 2	81	153936	153955	704
	532403	AAGCTTCTATCAACCAACTG	Intrón 2	87	154093	154112	705
55	532404	ACCATTTTCTAATAATTACAC	Intrón 2	46	154502	154521	706
	532405	ACCTGCACTTGGACAACCTGA	Intrón 2	60	154727	154746	707
	532406	GTCAGTGCTTTGGTGATGTA	Intrón 2	11	155283	155302	708
60	532407	TAGAAGCACAGGAAC TAGAG	Intrón 2	68	155889	155908	709
	532408	TTTAATTTTATTAGAAGCAC	Intrón 2	14	155900	155919	710
	532409	GAGCAAGAATTAAGAAAATC	Intrón 2	29	155973	155992	711
65	532410	CTCTGCAGTCATGTACACAA	Intrón 2	93	156594	156613	712
	532411	GCTTGGTTTGTCAATCCTTT	Intrón 2	95	156889	156908	713

(continuación)

5	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	532412	GTTCTCAAGCAGGAGCCATT	Intrón 2	70	157330	157349	714
	532413	AGGGTGATCTTCCAAAACAA	Intrón 2	87	158612	158631	715
	532414	TCTCCTATGCTTCCTTTAAT	Intrón 2	25	158813	158832	716
15	532415	GACATAAATATGTTCACTGA	Intrón 2	81	159216	159235	717
	532416	TTACTGAGTGACAGTACAGT	Intrón 2	65	161588	161607	718
	532417	CCAGGCACCAGCACAGGCAC	Intrón 2	47	161950	161969	719
20	532418	TTAATGTCAGTAGAAAGCTG	Intrón 2	0	162349	162368	720
	532419	GCAGGTGGAAAGAAGATGTC	Intrón 2	50	162531	162550	721
	532420	GCCAGGGTCTTTACAAAGTT	Intrón 2	93	162751	162770	722
25	532421	CATTACCTTTGTACATGTAC	Intrón 2	83	164839	164858	723
	532422	GAAGCAACTTCTCTGAGGTC	Intrón 2	68	165040	165059	724
	532423	GCCTGGCAAGAAGGGCCCTT	Intrón 2	56	165856	165875	725
30	532424	ACACATGTTTTTAAATTTAT	Intrón 2	21	166241	166260	726
	532425	TCACAATGCACTAAAAGAAA	Intrón 2	53	168760	168779	727
	532426	TCCAATGACTTACTGTAGA	Intrón 2	78	169073	169092	728
35	532427	TAAGCATTTATGGAGGAATG	Intrón 2	46	169134	169153	729
	532428	TGAGGTGGGTGGCCAACAGG	Intrón 2	66	170081	170100	730
	532429	GTTTTTCATTTTGATTGCAG	Intrón 2	88	170158	170177	731
40	532430	AGCTCAAGTGTTTTTCATTT	Intrón 2	64	170167	170186	732
	532431	CAATGTCACAGCTGTTTCCT	Intrón 2	62	170272	170291	733
	532432	GAACCTTGGAGGCTTTTAGA	Intrón 2	55	170703	170722	734
45	532433	TGTATGCCCCAACTCCCAT	Intrón 2	83	171431	171450	735
	532434	ACACAAATAAGGGAATAATA	Intrón 2	24	171549	171568	736
	532435	TAGTTCAGCCACTATGGAAA	Intrón 2	47	171926	171945	737
50	532436	CTCCAAATTCCAGTCCTAGG	Intrón 2	93	172746	172765	738
	532437	AGTTGGCACTGCTATATCAG	Intrón 2	66	173668	173687	739
	532438	GGCCTTAGATTGTAAGTTTT	Intrón 2	69	174122	174141	740
55	532439	TTTTAGTATTATTGTAGGAA	Intrón 2	16	174188	174207	741
	532440	TTTCATTAATGAAACCTGAT	Intrón 2	39	174812	174831	742
	532441	CCCTCAGCTGCCTCTTCAAT	Intrón 2	51	175014	175033	743
60	532442	TATTGTATCCTGGCCCCTAA	Intrón 2	68	175689	175708	744
	532443	AGAACAAGAGCCTAGAAGTA	Intrón 2	35	176592	176611	745
	532444	GTGACTATGTCACTGAATTT	Intrón 2	14	176918	176937	746
65	532445	GCCCTACCCAGCAGCCTGTG	Intrón 2	79	177540	177559	747
	532446	CAAACATAAAGAGAGTTCCA	Intrón 2	79	177811	177830	748

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532447	CTTTAAATGAAGTAGAGCTC	Intrón 2	0	178090	178109	749
532448	CTGTTCAAAGAATGCAGGCC	Intrón 2	70	178905	178924	750
532449	GTCTAGCCTAACAGAGATAT	Intrón 2	47	179137	179156	751
532450	AAAGAGTGATGTCTAGCCTA	Intrón 2	55	179147	179166	752
532451	CACTTCTTACTCCTTTGAGG	Intrón 2	50	179631	179650	753
532452	TTCCACAAGAACTCAGTTT	Intrón 2	56	181514	181533	754
532453	AGAAATGCCAAAGATAGCTC	Intrón 2	56	182105	182124	755

Tabla 12

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 2 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533249	AGCAGAGGATCTCAGCTGCA	84	146241	146260	756
533250	AATCCCTGCTCAAGTGCTAC	75	147259	147278	757
533251	AAATCCCTGCTCAAGTGCTA	71	147260	147279	758
533252	AAAATCCCTGCTCAAGTGCT	73	147261	147280	759
533253	AGAAAATCCCTGCTCAAGTG	56	147263	147282	760
533254	AAGAAAATCCCTGCTCAAGT	58	147264	147283	761
533255	CAAGAAAATCCCTGCTCAAG	46	147265	147284	762
533256	CTGATATTGTAATTCTTGGT	91	148059	148078	763
533257	CCTGATATTGTAATTCTTGG	90	148060	148079	764
533258	GCCTGATATTGTAATTCTTG	94	148061	148080	765
533259	ATGCCTGATATTGTAATTCT	91	148063	148082	766
533260	AATGCCTGATATTGTAATTC	74	148064	148083	767
533261	CAATGCCTGATATTGTAATT	76	148065	148084	768
533262	AATTATGTGCTTTGCCTGCA	92	148904	148923	769
533263	CAATTATGTGCTTTGCCTGC	83	148905	148924	770
533264	TCAATTATGTGCTTTGCCTG	83	148906	148925	771
533265	TGTCAATTATGTGCTTTGCC	91	148908	148927	772
533266	ATGTCAATTATGTGCTTTGC	83	148909	148928	773
533267	GATGTCAATTATGTGCTTTG	74	148910	148929	774
533268	CTGGTGACTCTGCCTGATGA	77	151385	151404	775
533269	GCTGGTGACTCTGCCTGATG	87	151386	151405	776
533270	TGCTGGTGACTCTGCCTGAT	89	151387	151406	777
533271	GCTGCTGGTGACTCTGCCTG	94	151389	151408	778

(continuación)

(Continuación)						
Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 2 de la SEQ ID NO: 2						
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	533272	GGCTGCTGGTGA CTCTGCCT	77	151390	151409	779
	533273	TGGCTGCTGGTGA CTCTGCC	82	151391	151410	780
10	533274	GCTGAAGGATGGGCATCCAG	85	152201	152220	781
	533275	TGCTGAAGGATGGGCATCCA	85	152202	152221	782
	533276	ATGCTGAAGGATGGGCATCC	78	152203	152222	783
15	533277	GAATGCTGAAGGATGGGCAT	66	152205	152224	784
	533278	AGAATGCTGAAGGATGGGCA	81	152206	152225	785
	533279	CAGAATGCTGAAGGATGGGC	85	152207	152226	786
20	533280	TCCAGTAGTCAATATTATTT	87	153001	153020	787
	533281	ATCCAGTAGTCAATATTATT	85	153002	153021	788
	533282	TATCCAGTAGTCAATATTAT	69	153003	153022	789
25	533283	GTTATCCAGTAGTCAATATT	77	153005	153024	790
	533284	GGTTATCCAGTAGTCAATAT	85	153006	153025	791
	533285	TGGTTATCCAGTAGTCAATA	86	153007	153026	792
30	533286	CAACTTGAGGACAATAAGAG	35	155591	155610	793
	533287	TCAACTTGAGGACAATAAGA	62	155592	155611	794
	533288	CTCAACTTGAGGACAATAAG	86	155593	155612	795
35	533289	AACTCAACTTGAGGACAATA	82	155595	155614	796
	533290	TA ACTCAACTTGAGGACAAT	66	155596	155615	797
	533291	ATA ACTCAACTTGAGGACAA	87	155597	155616	798
40	533292	CAGGAAGAAAGGAACCTTAG	77	156391	156410	799
	533293	CCAGGAAGAAAGGAACCTTA	84	156392	156411	800
	533294	ACCAGGAAGAAAGGAACCTT	86	156393	156412	801
45	533295	AGACCAGGAAGAAAGGAACC	74	156395	156414	802
	533296	TAGACCAGGAAGAAAGGAAC	59	156396	156415	803
	533297	ATAGACCAGGAAGAAAGGAA	65	156397	156416	804
50	533298	TACAATGCACAGGACACGCC	73	157198	157217	805
	533299	CTACAATGCACAGGACACGC	85	157199	157218	806
	533300	GCTACAATGCACAGGACACG	83	157200	157219	807
55	533301	ATGCTACAATGCACAGGACA	89	157202	157221	808
	533302	TATGCTACAATGCACAGGAC	82	157203	157222	809
	533303	ATATGCTACAATGCACAGGA	84	157204	157223	810
60	533304	CTGATATTTATTGCTGTACG	76	158006	158025	811
	533305	CTCTGATATTTATTGCTGTA	80	158008	158027	812
	533306	TCTCTGATATTTATTGCTGT	86	158009	158028	813
65	533307	GTCTCTGATATTTATTGCTG	80	158010	158029	814

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 2 de la SEQ ID NO: 2						
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	533308	CCAGAAGAATTACCCATGCA	85	165550	165569	815
	533309	TCCAGAAGAATTACCCATGC	84	165551	165570	816
10	533310	TTCCAGAAGAATTACCCATG	81	165552	165571	817
	533311	TCTTCCAGAAGAATTACCCA	58	165554	165573	818
	533312	ATCTTCCAGAAGAATTACCC	64	165555	165574	819
15	533313	CATCTTCCAGAAGAATTACC	58	165556	165575	820
	533314	TTTCTGCAGTATCCTAGCCT	78	166350	166369	821
	533315	GTTTCTGCAGTATCCTAGCC	88	166351	166370	822
20	533316	AGTTTCTGCAGTATCCTAGC	86	166352	166371	823
	533317	TCAGTTTCTGCAGTATCCTA	88	166354	166373	824
	533318	TTCAGTTTCTGCAGTATCCT	87	166355	166374	825
25	533319	TTTCAGTTTCTGCAGTATCC	80	166356	166375	826
	533320	GTTTCCATTTTCTTGATTCC	70	169601	169620	827
	533321	TGTTTCCATTTTCTTGATT	54	169602	169621	828
30	533322	GTGTTTCCATTTTCTTGATT	55	169603	169622	829
	533323	TGGTGTTCATTTTCTTGGA	73	169605	169624	830
	533324	ATGGTGTTCATTTTCTTG	76	169606	169625	831
35	533325	AATGGTGTTCATTTTCTT	78	169607	169626	832

Tabla 13

40	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE targeting intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
45	533326	AACCCATTTTCATCCATTAA	Intrón 2	93	175369	175388	833
50	533327	GAACCCATTTTCATCCATTAA	Intrón 2	83	175370	175389	834
	533328	GGAACCCATTTTCATCCATTT	Intrón 2	92	175371	175390	835
55	533329	TAGGAACCCATTTTCATCCAT	Intrón 2	91	175373	175392	836
	533330	GTAGGAACCCATTTTCATCCA	Intrón 2	95	175374	175393	837
60	533331	GGTAGGAACCCATTTTCATCC	Intrón 2	92	175375	175394	838
65	533332	TGAGGGATTGCCTCAGTAGC	Intrón 2	66	179616	179635	839

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE targeting intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
5	533333	TTGAGGGATTGCCTCAGTAG	Intrón 2	72	179617	179636	840
10	533334	TTTGAGGGATTGCCTCAGTA	Intrón 2	67	179618	179637	841
15	533335	CCTTTGAGGGATTGCCTCAG	Intrón 2	74	179620	179639	842
20	533336	TCCTTTGAGGGATTGCCTCA	Intrón 2	66	179621	179640	843
25	533337	CTCCTTTGAGGGATTGCCTC	Intrón 2	76	179622	179641	844
30	533338	AACTTAGGACTTGGGACATT	Intrón 2	64	184575	184594	845
35	533339	TAAGTAGGACTTGGGACAT	Intrón 2	54	184576	184595	846
40	533340	CTAAGTAGGACTTGGGACA	Intrón 2	63	184577	184596	847
45	533341	CACTAAGTAGGACTTGGGA	Intrón 2	82	184579	184598	848
50	533342	TCACTAAGTAGGACTTGGG	Intrón 2	77	184580	184599	849
55	533343	GTCCTAAGTAGGACTTGG	Intrón 2	83	184581	184600	850
60	533344	TGGGCTAGATCAGGATTGGT	Intrón 2	81	188617	188636	851
65	533345	ATGGGCTAGATCAGGATTGG	Intrón 2	70	188618	188637	852
	533346	CATGGGCTAGATCAGGATTG	Intrón 2	64	188619	188638	853
	533347	ACCATGGGCTAGATCAGGAT	Intrón 2	82	188621	188640	854
	533348	TACCATGGGCTAGATCAGGA	Intrón 2	88	188622	188641	855
	533349	CTACCATGGGCTAGATCAGG	Intrón 2	87	188623	188642	856
	533350	ATGAGCTTAGCAGTCACTTA	Intrón 2	83	189482	189501	857
	533351	CATGAGCTTAGCAGTCACTT	Intrón 2	87	189483	189502	858
	533352	CCATGAGCTTAGCAGTCACT	Intrón 2	92	189484	189503	859
	533353	GTCTCAGCAAACCTGGGATA	Intrón 2	84	190283	190302	860

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE targeting intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada
5	533354	TGTCTCAGCAAACCTGGGAT	Intrón 2	82	190284	190303
10	533355	ATGTCTCAGCAAACCTGGGA	Intrón 2	81	190285	190304
15	533356	GAATGTCTCAGCAAACCTGG	Intrón 2	76	190287	190306
20	533357	GGAATGTCTCAGCAAACCTG	Intrón 2	82	190288	190307
25	533358	AGGAATGTCTCAGCAAACCT	Intrón 2	85	190289	190308
30	533359	TACAGACATAGCTCTAACCT	Intrón 2	79	191139	191158
35	533360	ATACAGACATAGCTCTAACC	Intrón 2	79	191140	191159
40	533361	GATACAGACATAGCTCTAAC	Intrón 2	71	191141	191160
45	533362	TGGATACAGACATAGCTCTA	Intrón 2	79	191143	191162
50	533363	CTGGATACAGACATAGCTCT	Intrón 2	82	191144	191163
55	533364	GCTGGATACAGACATAGCTC	Intrón 2	95	191145	191164
60	533365	ACACTGTTTGTGAGGGTCAA	Intrón 2	87	191939	191958
65	533366	AACACTGTTTGTGAGGGTCA	Intrón 2	81	191940	191959
	533367	CAAACTGTTTGTGAGGGTC	Intrón 2	85	191941	191960
	533368	AACAACACTGTTTGTGAGGG	Intrón 2	65	191943	191962
	533369	AAACAACACTGTTTGTGAGG	Intrón 2	76	191944	191963
	533370	CAAACAACACTGTTTGTGAG	Intrón 2	67	191945	191964
	533371	TTCAAGTTTAGGATCTGCAG	Intrón 2	73	196536	196555
	533372	CTTCAAGTTTAGGATCTGCA	Intrón 2	88	196537	196556
	533373	GCTTCAAGTTTAGGATCTGC	Intrón 2	86	196538	196557
	533374	GGGCTTCAAGTTTAGGATCT	Intrón 2	67	196540	196559

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE targeting intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada
5	533375	AGGGCTTCAAGTTTAGGATC	Intrón 2	66	196541	196560
10	533376	CAGGGCTTCAAGTTTAGGAT	Intrón 2	74	196542	196561
15	533377	TGTGGCTTTAATTCATAAT	Intrón 2	84	198145	198164
20	533378	ATGTGGCTTTAATTCATAA	Intrón 2	86	198146	198165
25	533379	TATGTGGCTTTAATTCATA	Intrón 2	79	198147	198166
30	533380	GGTATGTGGCTTTAATTCAC	Intrón 2	83	198149	198168
35	533381	TGGTATGTGGCTTTAATTC	Intrón 2	81	198150	198169
40	533382	GTGGTATGTGGCTTTAATTC	Intrón 2	86	198151	198170
45	533383	TCTGTGTTTCAGTTGCATCAC	Intrón 2	75	199817	199836
50	533384	TTCTGTGTTTCAGTTGCATCA	Intrón 2	82	199818	199837
55	533385	GTTCTGTGTTTCAGTTGCATC	Intrón 2	86	199819	199838
60	533386	GTAATCATGAGGAGGCACTT	Intrón 2	81	201413	201432
65	533387	GGTAATCATGAGGAGGCACT	Intrón 2	82	201414	201433
	533388	TGTAATCATGAGGAGGCAC	Intrón 2	78	201415	201434
	533389	ATTGGTAATCATGAGGAGGC	Intrón 2	64	201417	201436
	533390	AATTGGTAATCATGAGGAGG	Intrón 2	47	201418	201437
	533391	CAATTGGTAATCATGAGGAG	Intrón 2	54	201419	201438
	533392	AAACTCTGCAACTCCAACCC	Intrón 2	69	205549	205568
	533393	GAAACTCTGCAACTCCAACC	Intrón 2	64	205550	205569
	533394	GGAAACTCTGCAACTCCAAC	Intrón 2	83	205551	205570
	533395	ATGGAAACTCTGCAACTCCA	Intrón 2	88	205553	205572

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE targeting intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533396	CATGGAAACTCTGCAACTCC	Intrón 2	70	205554	205573	903
533397	TCATGGAAACTCTGCAACTC	Intrón 2	69	205555	205574	904
533398	ACATCTGGATGTGAGGCTCG	Intrón 3	64	210559	210578	905
533399	CACATCTGGATGTGAGGCTC	Intrón 3	84	210560	210579	906
533400	GTCACATCTGGATGTGAGGC	Intrón 3	75	210562	210581	907
533401	TGTCACATCTGGATGTGAGG	Intrón 3	51	210563	210582	908
533402	CTGTCACATCTGGATGTGAG	Intrón 3	30	210564	210583	909

Tabla 14

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523715	GTCAATTATGTGCTTTGCCT	Intrón 2	91	148907	148926	910
523716	ACATTCAAAATTCTTCCTTG	Intrón 2	50	149787	149806	911
523717	ATCCTGCATATATTTTATTG	Intrón 2	20	150588	150607	912
523718	CTGCTGGTGACTCTGCCTGA	Intrón 2	77	151388	151407	913
523719	AATGCTGAAGGATGGGCATC	Intrón 2	66	152204	152223	914
523720	TTATCCAGTAGTCAATATTA	Intrón 2	71	153004	153023	915
523721	TCTCATGTAAAGTTCTTAA	Intrón 2	48	153831	153850	916
523722	TGCACTTGGACAACTGATAG	Intrón 2	29	154724	154743	917
523723	ACTCAACTTGAGGACAATAA	Intrón 2	88	155594	155613	918
523724	GACCAGGAAGAAAGGAACCT	Intrón 2	72	156394	156413	919

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523725	TGCTACAATGCACAGGACAC	Intrón 2	80	157201	157220	920
523726	TCTGATATTTATTGCTGTAC	Intrón 2	73	158007	158026	921
523727	ATGCTTCCTTTAATAAATGT	Intrón 2	0	158807	158826	922
523728	AACATTTAGAACCTAGGAGA	Intrón 2	20	159610	159629	923
523729	CAAGCTTGCAAGTAGGAAAA	Intrón 2	51	160410	160429	924
523730	CCAGGCTGTTCATGCCAAGG	Intrón 2	26	161248	161267	925
523731	CCTGCCAAGGGCAAGCCAGG	Intrón 2	17	162064	162083	926
523732	TTTCACCTGGTGACTGGAAG	Intrón 2	51	163019	163038	927
523733	ATTTTCTACCATCAAAGAGA	Intrón 2	4	163943	163962	928
523734	GATTAAGTTTTCTTTAAAAA	Intrón 2	0	164746	164765	929
523735	CTTCCAGAAGAATTACCCAT	Intrón 2	56	165553	165572	930
523736	CAGTTTCTGCAGTATCCTAG	Intrón 2	77	166353	166372	931
523737	TATTTTGAAAATGAGATTCA	Intrón 2	0	167195	167214	932
523738	GTGGCCCGAGTAAAGATAAA	Intrón 2	21	167995	168014	933
523739	CCTGTCAATCCTCTTATATG	Intrón 2	37	168804	168823	934
523740	GGTGTTCCATTTTCTTGAT	Intrón 2	65	169604	169623	935
523741	ACAGGGTCAAAAGTTCACTT	Intrón 2	44	170407	170426	936
523742	TAGGAAAGCTGAGAGAATCC	Intrón 2	35	171207	171226	937
523743	AGCATATGAAAAAATACTCA	Intrón 2	0	172101	172120	938
523744	CTTCAGAAATCAGCATCTGA	Intrón 2	45	172937	172956	939
523745	TTACAAGTGACAGTGTGTTGT	Intrón 2	28	173737	173756	940

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							
5	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	523746	ATCAGACCCTGAAGAATTTA	Intrón 2	29	174560	174579	941
	523747	AGGAACCCATTTTCATCCATT	Intrón 2	83	175372	175391	942
15	523748	CACATTGGTAACTTAAAGTT	Intrón 2	18	176263	176282	943
	523749	TATTATCTGACTCATTTCTG	Intrón 2	16	177072	177091	944
20	523750	AAATAAGACAAAGAAAATTC	Intrón 2	0	177872	177891	945
	523751	TTTTAAAAATAACCAATTCA	Intrón 2	0	178788	178807	946
25	523752	CTTTGAGGGATTGCCTCAGT	Intrón 2	66	179619	179638	947
	523753	ACAGTCCTCATGAACAGATT	Intrón 2	37	180513	180532	948
30	523754	ACTATCATTAATAATATTGT	Intrón 2	0	181323	181342	949
	523755	ATCTAGATTTGCCTTATAAG	Intrón 2	27	182123	182142	950
35	523756	TGGTTGAGGAAGACAGTCTC	Intrón 2	16	182962	182981	951
	523757	TGGCTCATAACTTCCTTAGC	Intrón 2	43	183762	183781	952
40	523758	ACTAACTTAGGACTTGGGAC	Intrón 2	72	184578	184597	953
	523759	CTTATAGCATTACTAAGTGG	Intrón 2	49	185403	185422	954
45	523760	TGGTGGCAGGAGAGAGGGAA	Intrón 2	48	186203	186222	955
	523761	TTTGCCAGGAAATCTTGAAA	Intrón 2	35	187003	187022	956
50	523762	ATAACTTTTCTCTGAAATTT	Intrón 2	8	187803	187822	957
	523763	CCATGGGCTAGATCAGGATT	Intrón 2	59	188620	188639	958
55	523764	TGAGCTTAGCAGTCACTTAG	Intrón 2	62	189481	189500	959
	523765	AATGTCTCAGCAAACCTGGG	Intrón 2	62	190286	190305	960
60	523766	GGATACAGACATAGCTCTAA	Intrón 2	75	191142	191161	961

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							
5	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	523767	ACAACACTGTTTGTGAGGGT	Intrón 2	66	191942	191961	962
	523768	TCTATTTTCTAATAGCTGTT	Intrón 2	49	192742	192761	963
15	523769	GGCCCCACCTCTGACCTTCA	Intrón 2	7	193542	193561	964
	523770	TGGTAAAGCTAGAAAAAAAA	Intrón 2	0	194346	194365	965
20	523771	AAGTGGTAAATATGATCACA	Intrón 2	23	195159	195178	966
	523772	GGCTTCAAGTTTAGGATCTG	Intrón 2	52	196539	196558	967
25	523773	TTGTTGACACTCTCTTTTGG	Intrón 2	18	197348	197367	968
	523774	GTATGTGGCTTTAATTCACT	Intrón 2	71	198148	198167	969
30	523775	AATTAGTTGTTTTGGCAAAT	Intrón 2	14	198988	199007	970
	523776	CTGTGTTCAAGTGCATCACG	Intrón 2	75	199816	199835	971
35	523777	AATGTGGAAGTTTCCTAACA	Intrón 2	15	200616	200635	972
	523778	TTGGTACTCATGAGGAGGCA	Intrón 2	58	201416	201435	973
40	523779	TTTCTCTGTGTTTAAATTG	Intrón 2	13	202308	202327	974
	523780	GTAAAGCACAATGAACAAAA	Intrón 2	21	203115	203134	975
45	523781	ATCACAGATCTTTGCTACAA	Intrón 2	51	203915	203934	976
	523782	TCCTGCCTTTCTGAACCAAA	Intrón 2	50	204721	204740	977
50	523783	TGGAACTCTGCAACTCCAA	Intrón 2	58	205552	205571	978
	523784	ACACAGTAGGGAACAATTTT	Intrón 2	8	206412	206431	979
55	523785	AGACAGATGGTGAAATGATG	Intrón 2	0	207219	207238	980
	523786	AAACAGAAAGAGAAGAAAAC	Intrón 2	0	208117	208136	981
60	523787	CTTAGATAAACTTCAAGA	Intrón 3	0	208938	208957	982

(continuación)

5	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	523788	AGCCACTTCTTTTACAACCT	Intrón 3	0	209742	209761	983
	523789	TCACATCTGGATGTGAGGCT	Intrón 3	80	210561	210580	984
15	523790	GACTGAAACTTAAAGGTGGG	Intrón 3	7	211399	211418	985
20	523791	AAAGATGTGCAATCATCTAA	Intrón 3	44	212204	212223	986

Tabla 15

	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 3-10-4 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
25	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	539360	GCTGGTGACTCTGCCTG	Intrón 2	95	151389	151405	987
30	539361	TGCTGGTGACTCTGCCT	Intrón 2	95	151390	151406	988
	539362	CTGCTGGTGACTCTGCC	Intrón 2	93	151391	151407	989
	539363	AGTAGTCAATATTATTT	Intrón 2	31	153001	153017	990
35	539364	CAGTAGTCAATATTATT	Intrón 2	13	153002	153018	991
	539365	CCAGTAGTCAATATTAT	Intrón 2	34	153003	153019	992
	539366	CCTTTGGGTGAATAGCA	Intrón 2	64	153921	153937	993
40	539367	ACCTTTGGGTGAATAGC	Intrón 2	78	153922	153938	994
	539368	CACCTTTGGGTGAATAG	Intrón 2	40	153923	153939	995
	539369	CAACTTGAGGACAATAA	Intrón 2	38	155594	155610	996
45	539370	TCAACTTGAGGACAATA	Intrón 2	63	155595	155611	997
	539371	CTCAACTTGAGGACAAT	Intrón 2	81	155596	155612	998
	539372	CAGGAAGAAAGGAACCT	Intrón 2	70	156394	156410	999
50	539373	CCAGGAAGAAAGGAACC	Intrón 2	59	156395	156411	1000
	539374	ACCAGGAAGAAAGGAAC	Intrón 2	43	156396	156412	1001
	539375	TGCAGTCATGTACACAA	Intrón 2	93	156594	156610	1002
55	539376	CTGCAGTCATGTACACA	Intrón 2	91	156595	156611	1003
	539377	TCTGCAGTCATGTACAC	Intrón 2	87	156596	156612	1004
	539378	TGGTTTGTCAATCCTTT	Intrón 2	95	156889	156905	1005
60	539379	TTGGTTTGTCAATCCTT	Intrón 2	97	156890	156906	1006
	539380	CTTGGTTTGTCAATCCT	Intrón 2	97	156891	156907	1007
	539381	TACAATGCACAGGACAC	Intrón 2	65	157201	157217	1008
65	539382	CTACAATGCACAGGACA	Intrón 2	85	157202	157218	1009

(continuación)

	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 3-10-4 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
5	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQID NO:2 Sitio de inicio	SEQ ID NO:2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	539383	GCTACAATGCACAGGAC	Intrón 2	96	157203	157219	1010
	539384	GATATTTATTGCTGTAC	Intrón 2	43	158007	158023	1011
	539385	TGATATTTATTGCTGTA	Intrón 2	35	158008	158024	1012
	539386	CTGATATTTATTGCTGT	Intrón 2	38	158009	158025	1013
15	539387	AGGGTCTTTACAAAGTT	Intrón 2	61	162751	162767	1014
	539388	CAGGGTCTTTACAAAGT	Intrón 2	65	162752	162768	1015
	539389	CCAGGGTCTTTACAAAG	Intrón 2	88	162753	162769	1016
20	539390	TTCTGCAGTATCCTAGC	Intrón 2	72	166352	166368	1017
	539391	TTTCTGCAGTATCCTAG	Intrón 2	53	166353	166369	1018
	539392	GTTTCTGCAGTATCCTA	Intrón 2	84	166354	166370	1019
25	539393	AGTTTCTGCAGTATCCT	Intrón 2	78	166355	166371	1020
	539394	CAGTTTCTGCAGTATCC	Intrón 2	77	166356	166372	1021
	539395	CAAATTCCAGTCCTAGG	Intrón 2	60	172746	172762	1022
30	539396	CCAAATTCCAGTCCTAG	Intrón 2	75	172747	172763	1023
	539397	TCCAAATTCCAGTCCTA	Intrón 2	62	172748	172764	1024
	539398	AACCCATTTATCCATT	Intrón 2	82	175372	175388	1025
35	539399	GAACCCATTTATCCAT	Intrón 2	86	175373	175389	1026
	539400	GGAACCCATTTATCCA	Intrón 2	84	175374	175390	1027
	539401	GCTTCATGTCTTTCTAG	Intrón 2	88	189119	189135	1028
40	539402	TGCTTCATGTCTTTCTA	Intrón 2	77	189120	189136	1029
	539403	GTGCTTCATGTCTTTCT	Intrón 2	95	189121	189137	1030
	539404	TGAGCTTAGCAGTCACT	Intrón 2	92	189484	189500	1031
45	539405	CATGAGCTTAGCAGTCA	Intrón 2	82	189486	189502	1032
	539406	TACAGACATAGCTCTAA	Intrón 2	45	191142	191158	1033
	539407	ATACAGACATAGCTCTA	Intrón 2	53	191143	191159	1034
50	539408	GATACAGACATAGCTCT	Intrón 2	67	191144	191160	1035
	539409	TGTGGCTTTAATTCACT	Intrón 2	70	198148	198164	1036
	539410	ATGTGGCTTTAATTCAC	Intrón 2	40	198149	198165	1037
55	539411	TATGTGGCTTTAATTCA	Intrón 2	35	198150	198166	1038
	539412	TGTTTCAGTTGCATCACG	Intrón 2	84	199816	199832	1039
	539413	GTGTTTCAGTTGCATCAC	Intrón 2	80	199817	199833	1040
60	539414	TGTGTTTCAGTTGCATCA	Intrón 2	74	199818	199834	1041
	539415	CATCTGGATGTGAGGCT	Intrón 3	82	210561	210577	1042
	539416	ACATCTGGATGTGAGGC	Intrón 3	86	210562	210578	1043
65	539417	CACATCTGGATGTGAGG	Intrón 3	55	210563	210579	1044

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 3-10-4 MOE dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
539418	TCAGGTAATTTCTGGAA	Intrón 3	35	219019	219035	1045
539419	CTCAGGTAATTTCTGGA	Intrón 3	44	219020	219036	1046
539420	TCTCAGGTAATTTCTGG	Intrón 3	31	219021	219037	1047
539421	TTGCTTATTTACCTGGG	Intrón 3	0	225568	225584	1048
539422	TTTGCTTATTTACCTGG	Intrón 3	38	225569	225585	1049
539423	TTTTGCTTATTTACCTG	Intrón 3	33	225570	225586	1050
539424	ATGATGTTACTACTACT	Intrón 3	29	229618	229634	1051
539425	AATGATGTTACTACTAC	Intrón 3	10	229619	229635	1052
539426	CAATGATGTTACTACTA	Intrón 3	0	229620	229636	1053
539427	CCCCTAGAGCAATGGTC	Intrón 3	67	232826	232842	1054
539428	CCCCCTAGAGCAATGGT	Intrón 3	65	232827	232843	1055
539429	TCCCCCTAGAGCAATGG	Intrón 3	45	232828	232844	1056
539430	TCAATTGCAGATGCTCT	Intrón 3	78	237675	237691	1057
539431	CTCAATTGCAGATGCTC	Intrón 3	82	237676	237692	1058
539432	GCTCAATTGCAGATGCT	Intrón 3	92	237677	237693	1059
539433	AGCTCAATTGCAGATGC	Intrón 3	85	237678	237694	1060
539434	GTATATTCAGTCCAAGG	Intrón 3	73	248231	248247	1061
539435	AGTATATTCAGTCCAAG	Intrón 3	70	248232	248248	1062
539436	CAGTATATTCAGTCCAA	Intrón 3	40	248233	248249	1063

Tabla 16

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532502	GAGTATTTTCAGGCTGGAAAA	Intrón 3	43	214623	214642	1064
533404	GTAAGTCAGGAATGGAAAAAC	Intrón 1	56	26501	26520	1065
				113035	113054	
				121992	122011	
533405	AGTAAGTCAGGAATGGAAAA	Intrón 1	41	26502	26521	1066
				113036	113055	
				121993	122012	
533406	AAGTAAGTCAGGAATGGAAA	Intrón 1	43	26503	26522	1067
				113037	113056	
				121994	122013	

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533407	GAGATTTCAAATAAATCTCA	Intrón 1	0	143207	143226	1068
				143235	143254	
				143263	143282	
				143291	143310	
				143319	143338	
				143347	143366	
				143375	143394	
				143403	143422	
				143431	143450	
				143459	143478	
533408	TGAGATTTCAAATAAATCTC	Intrón 1	11	143208	143227	1069
				143236	143255	
				143264	143283	
				143292	143311	
				143320	143339	
				143348	143367	
				143376	143395	
				143404	143423	
				143432	143451	
				143460	143479	
533409	GTGAGATTTCAAATAAATCT	Intrón 1	0	143209	143228	1070
				143237	143256	
				143265	143284	
				143293	143312	
				143321	143340	
				143349	143368	
				143377	143396	
				143405	143424	
				143433	143452	
				143461	143480	

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533410	TGTGAGATTTCAAATAAATC	Intrón 1	0	143210	143229	1071
				143238	143257	
				143266	143285	
				143294	143313	
				143322	143341	
				143350	143369	
				143378	143397	
				143406	143425	
				143434	143453	
				143462	143481	
533411	TTGTGAGATTTCAAATAAAT	Intrón 1	10	143183	143202	1072
				143211	143230	
				143239	143258	
				143267	143286	
				143295	143314	
				143323	143342	
				143351	143370	
				143379	143398	
				143407	143426	
				143435	143454	
533412	TTTGTGAGATTTCAAATAAA	Intrón 1	0	143184	143203	1073
				143212	143231	
				143240	143259	
				143296	143315	
				143324	143343	
				143352	143371	
				143380	143399	
				143464	143483	

(continuación)

5	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	533413	CTTTGTGAGATTTCAAATAA	Intrón 1	20	143185	143204	1074
					143213	143232	
					143241	143260	
15					143297	143316	
					143325	143344	
					143353	143372	
20					143381	143400	
					143465	143484	
25	533414	ACTTTGTGAGATTTCAAATA	Intrón 1	57	143186	143205	1075
					143214	143233	
					143242	143261	
30					143298	143317	
					143326	143345	
					143354	143373	
35					143382	143401	
					143466	143485	
40	533415	CACTTTGTGAGATTTCAAAT	Intrón 1	69	143187	143206	1076
					143215	143234	
					143243	143262	
					143299	143318	
45					143327	143346	
					143355	143374	
					143383	143402	
					143467	143486	
50	533895	AGTATTTTCAGGCTGGAAAAA	Intrón 3	35	214622	214641	1077
	533896	TGAGTATTTTCAGGCTGGAAA	Intrón 3	55	214624	214643	1078
55	533897	TCTGAGTATTTTCAGGCTGGA	Intrón 3	71	214626	214645	1079
	533898	ATCTGAGTATTTTCAGGCTGG	Intrón 3	77	214627	214646	1080
60	533899	TATCTGAGTATTTTCAGGCTG	Intrón 3	58	214628	214647	1081
65	533900	TTTTGTGTTATGCCTTGAGG	Intrón 3	51	221483	221502	1082

(continuación)

5	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	533901	TTTTTGTTATGCCTTGAG	Intrón 3	55	221484	221503	1083
	533902	ATTTTGTTATGCCTTGA	Intrón 3	57	221485	221504	1084
15	533903	ATATTTTGTTATGCCTT	Intrón 3	56	221487	221506	1085
	533904	AATATTTTGTTATGCCT	Intrón 3	61	221488	221507	1086
20	533905	AAATATTTTGTTATGCC	Intrón 3	18	221489	221508	1087
	533906	TTGCTTATTACCTGGGTAA	Intrón 3	58	225565	225584	1088
25	533907	TTTGCTTATTACCTGGGTA	Intrón 3	64	225566	225585	1089
	533908	TTTTGCTTATTACCTGGGT	Intrón 3	77	225567	225586	1090
30	533909	CCTTTTGCTTATTACCTGG	Intrón 3	69	225569	225588	1091
	533910	GCCTTTTGCTTATTACCTG	Intrón 3	69	225570	225589	1092
35	533911	TGCCTTTTGCTTATTACCT	Intrón 3	55	225571	225590	1093
	533912	ATGATGTTACTACTACTCAA	Intrón 3	60	229615	229634	1094
40	533913	AATGATGTTACTACTACTCA	Intrón 3	48	229616	229635	1095
	533914	CAATGATGTTACTACTACTC	Intrón 3	57	229617	229636	1096
45	533915	TCCAATGATGTTACTACTAC	Intrón 3	69	229619	229638	1097
	533916	TTCCAATGATGTTACTACTA	Intrón 3	74	229620	229639	1098
50	533917	ATTCCAATGATGTTACTACT	Intrón 3	74	229621	229640	1099
	533918	CCCCTAGAGCAATGGTCTAG	Intrón 3	71	232823	232842	1100
55	533919	CCCCCTAGAGCAATGGTCTA	Intrón 3	44	232824	232843	1101
	533920	TCCCCCTAGAGCAATGGTCT	Intrón 3	54	232825	232844	1102
60	533921	TATCCCCCTAGAGCAATGGT	Intrón 3	62	232827	232846	1103

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada
5	533922	ATATCCCCCTAGAGCAATGG	Intrón 3	50	232828	232847
10	533923	AATATCCCCCTAGAGCAATG	Intrón 3	61	232829	232848
15	533924	GCTCACATTTGGAAGACAGT	Intrón 3	68	233623	233642
20	533925	GGCTCACATTTGGAAGACAG	Intrón 3	74	233624	233643
25	533926	AGGCTCACATTTGGAAGACA	Intrón 3	56	233625	233644
30	533927	AGAGGCTCACATTTGGAAGA	Intrón 3	34	233627	233646
35	533928	TAGAGGCTCACATTTGGAAG	Intrón 3	18	233628	233647
40	533929	TTAGAGGCTCACATTTGGAA	Intrón 3	19	233629	233648
45	533930	CTCAATTGCAGATGCTCTGA	Intrón 3	66	237673	237692
50	533931	GCTCAATTGCAGATGCTCTG	Intrón 3	72	237674	237693
55	533932	AGCTCAATTGCAGATGCTCT	Intrón 3	74	237675	237694
60	533933	AAAGCTCAATTGCAGATGCT	Intrón 3	66	237677	237696
65	533934	TAAAGCTCAATTGCAGATGC	Intrón 3	59	237678	237697
	533935	ATAAAGCTCAATTGCAGATG	Intrón 3	23	237679	237698
	533936	GTGAGTCCATTAAACCTCTT	Intrón 3	73	244873	244892
	533937	TGTGAGTCCATTAAACCTCT	Intrón 3	73	244874	244893
	533938	ACTGTGAGTCCATTAAACCT	Intrón 3	17	244876	244895
	533939	AACTGTGAGTCCATTAAACC	Intrón 3	19	244877	244896
	533940	GAAGTGTGAGTCCATTAAAC	Intrón 3	28	244878	244897
	533941	ATATTGAAAGGCCCATCAAA	Intrón 3	13	246498	246517
	533942	AATATTGAAAGGCCCATCAA	Intrón 3	31	246499	246518

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 1 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
533943	AAATATTGAAAGGCCCATCA	Intrón 3	51	246500	246519	1125
533944	GAAAATATTGAAAGGCCCAT	Intrón 3	22	246502	246521	1126
533945	GGAAAATATTGAAAGGCCCA	Intrón 3	42	246503	246522	1127
533946	AGGAAAATATTGAAAGGCC	Intrón 3	28	246504	246523	1128
533947	GTATATTCAGTCCAAGGATC	Intrón 3	65	248228	248247	1129
533948	AGTATATTCAGTCCAAGGAT	Intrón 3	63	248229	248248	1130
533949	CAGTATATTCAGTCCAAGGA	Intrón 3	67	248230	248249	1131
533950	AACAGTATATTCAGTCCAAG	Intrón 3	56	248232	248251	1132
533951	AAACAGTATATTCAGTCCAA	Intrón 3	60	248233	248252	1133
533952	AAAACAGTATATTCAGTCCA	Intrón 3	59	248234	248253	1134
533953	TCTATTGTTGCCACCTTTAT	Intrón 3	45	252838	252857	1135
533954	TTCTATTGTTGCCACCTTTA	Intrón 3	52	252839	252858	1136
533955	TTTCTATTGTTGCCACCTTT	Intrón 3	46	252840	252859	1137
533956	AGTTTCTATTGTTGCCACCT	Intrón 3	59	252842	252861	1138
533957	CAGTTTCTATTGTTGCCACC	Intrón 3	41	252843	252862	1139
533958	CCAGTTTCTATTGTTGCCAC	Intrón 3	48	252844	252863	1140

Tabla 17

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 3 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532454	GCAGAACTGATTGCTTACTT	78	182862	182881	1141
532455	AGGTCATAAGATTTTCATTT	48	183533	183552	1142
532456	GCCTCTGGCCATAAAGAAAT	54	183578	183597	1143

(continuación)

(Continuación)						
Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 3 de la SEQ ID NO: 2						
5	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
	532457	AAAGTTTAAGAGGCACCCCA	31	184508	184527	1144
	532458	GAATAAGCACAAAAGTTTAA	28	184519	184538	1145
10	532459	GAACCAAATAAACCTCTCTT	52	185452	185471	1146
	532460	ATGTTGAAATTTGATCCCCA	79	185763	185782	1147
	532461	TGTGAGAGCTCACTCACTAT	42	186134	186153	1148
15	532462	CTTGTGAGAGCTCACTCACT	72	186136	186155	1149
	532463	ACATGGTGGCAGGAGAGAGG	42	186206	186225	1150
	532464	CTAGAAAGAAACTACCTGAG	12	186341	186360	1151
20	532465	AACTTCAGTTGTAAAATAAT	27	187044	187063	1152
	532466	GAAAAGGATTTTGAGATTTT	43	188897	188916	1153
	532467	CTTAGCTGTCAAGGCCCTTT	80	189084	189103	1154
25	532468	TGTGCTTCATGTCTTTCTAG	88	189119	189138	1155
	532469	CCCTTGAACATGCTATCCTT	85	189256	189275	1156
	532470	CTTGCAGGGATGCATCTCAG	87	189625	189644	1157
30	532471	TCTCTTGCACATCTAATTTT	82	189656	189675	1158
	532472	CTTCCAGCACAAACCCATCAC	77	190109	190128	1159
	532473	GTAACATACATTCCCTTTATC	52	190860	190879	1160
35	532474	AGTAACTACATTCCCTTTAT	58	190861	190880	1161
	532475	CAGATAGCACAGGGCTAAAA	84	190979	190998	1162
	532476	AGAATCAGGAATGTTTGCCT	86	192904	192923	1163
40	532477	TGACTCAATCATTTAGACTT	45	192990	193009	1164
	532478	TCAACAGTCAATGGACTTGT	71	193042	193061	1165
	532479	AATTTCTACTGCTATGATGC	75	194806	194825	1166
45	532480	ATGGTTCCAAATTTCTATCT	86	195704	195723	1167
	532481	CTGTATGGCTTTAAGTATTC	63	196756	196775	1168
	532482	AACTTATGAACTGTTACCA	86	198307	198326	1169
50	532483	AATAAGCTTGAAGTCTGAAG	63	199520	199539	1170
	532484	TAGTTATCTAACTGCCCAAT	77	199544	199563	1171
	532485	TTCTGCAAAGCTTCCCAGTA	72	200314	200333	1172
55	532486	ACAACTTCAAGCTTCACATA	65	200599	200618	1173
	532487	GAATCAATGTTCTGGCAAGA	52	201842	201861	1174
	532488	CAGCCTTTCAGCTGTGAAAG	52	204181	204200	1175
60	532489	AACAATGCCAAGAAATCTAT	74	204369	204388	1176
	532490	CCCACAGTAACAATGCCAAG	90	204377	204396	1177
	532491	TTTTACCTCCCAGTGAAACT	34	205896	205915	1178
65	532492	TAATTGTTGATCCATGATGT	5	208856	208875	1179

(continuación)

5	Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 3 de la SEQ ID NO: 2					
	Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	532493	GTTGGAGAGACAAGTTTAAAC	29	208975	208994	1180
	532494	AGTCATAAAATTCAAATTAT	39	209537	209556	1181
	532495	GGCCTTGGGCACACTTTCTC	82	207510	207529	1182
				210189	210208	
15	532496	AAGTTTTTATTGAAGTTAAT	0	212551	212570	1183
	532497	AAGAAAAATTAGGAAGCTAG	31	212649	212668	1184
	532498	CAGGGAGATAAGTTTATTCA	61	212797	212816	1185
	532499	ATTTAATACACATTGGAATA	15	213390	213409	1186
20	532500	GTAGGACTATTTATGATTCC	86	213914	213933	1187
	532501	CACTCTCTTGGGCTGTTAAG	82	214479	214498	1188
25	532502	GAGTATTTTCAGGCTGGAAAA	66	214623	214642	1064
	532503	TTGTTTGAGTTCCAAAAGAA	39	214932	214951	1189
	532504	TTTGCCATGAGACACACAAT	77	215932	215951	1190
	532505	CACCAAACCTCAGAGACATG	80	216468	216487	1191
30	532506	CCACTGTTAAGTGATGCATG	83	217480	217499	1192
	532507	CTCTCAGGTAATTTCTGGAA	86	219019	219038	1193
35	532508	GCTCCTCACAATGACCCTTT	84	219452	219471	1194
	532509	GGGACTGGCACTGGTAATTT	56	220062	220081	1195
	532510	CTAACCATTAGTTACTGTAT	69	220558	220577	1196
	532511	GGATTTTAGGTTCTTGCTGT	51	221588	221607	1197
40	532512	TGAATCATATACTGATATCA	63	222914	222933	1198
	532513	TTGAGGTATTAATTTTAAA	0	223001	223020	1199
45	532514	AGTTTGTAATGTAGTGATTT	19	223156	223175	1200
	532515	AAATATTTGATAGCTCACAT	18	224409	224428	1201
	532516	AGAAATATTTGATAGCTCAC	57	224411	224430	1202
	532517	CCACATTTCAAATGTTCTCT	80	224717	224736	1203
50	532518	GCAGGAAGAGTGGCATGGAC	59	224750	224769	1204
	532519	CACTTATCCAAATGCAGAGA	82	225742	225761	1205
55	532520	CAAGGTAATGGGAGGCTAGC	47	225903	225922	1206
	532521	ATAGTCAAAGCTAAGGATAT	4	226177	226196	1207
	532522	GTAATTTCAATTCATGCTTCC	67	226804	226823	1208
	532523	GTCCACATTCAGCTGTGTGT	72	231912	231931	1209
60	532524	TCATTCAGGAAATTCTGCTA	62	232286	232305	1210
	532525	AACATGTCTCATTGAGGAAA	71	232294	232313	1211
65	532526	TAACATGTCTCATTGAGGAA	85	232295	232314	1212
	532527	AGATTCCTCAAATTCAGTGA	66	232389	232408	1213

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrón 3 de la SEQ ID NO: 2					
Nº ISIS	Secuencia	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532528	TAAGCGGAAAAGGAGAAAAG	0	233684	233703	1214
532529	AAAGCAAGAGAATTCCTAAA	32	234203	234222	1215
532530	AATGAACCTTTAACTTAGTA	40	234876	234895	1216

Tabla 18

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 3-8 y regiones intrónica-exónica de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523792	AAAGCTTTGTGGATAAAGTT	Intrón 3	44	213025	213044	1217
523793	GAAGGAAAGGTTCTGTGGAA	Intrón 3	38	213825	213844	1218
523794	CTGAGTATTTTCAGGCTGGAA	Intrón 3	84	214625	214644	1219
523795	TTGAATTATCCCTTTAAAAA	Intrón 3	38	215446	215465	1220
523796	TTTAGAATGGTTTGGCATAC	Intrón 3	66	216365	216384	1221
523797	GATATGTCCACATTGATTAG	Intrón 3	65	218132	218151	1222
523798	ATTATTTAAGCTTCTACTTT	Intrón 3	44	218973	218992	1223
523799	ATACATGGCAATTAAAAGAT	Intrón 3	26	219886	219905	1224
523800	TGAGATAGTGTGGGAAATAT	Intrón 3	18	220686	220705	1225
523801	TATTTTTGTGTATGCCTTG	Intrón 3	73	221486	221505	1226
523802	TTATTAAGTAGAATATGCCT	Intrón 3	16	223110	223129	1227
523803	GATTATTCTATTTTTATTTT	Intrón 3	33	223948	223967	1228
523804	AGGAAGAGTGGCATGGACAT	Intrón 3	43	224748	224767	1229
523805	CTTTTGCTTATTTACCTGGG	Intrón 3	84	225568	225587	1230
523806	TTTATATTATTAATATCATT	Intrón 3	31	226371	226390	1231
523807	GGTACATGGCTTTAAGTGG	Intrón 3	53	227218	227237	1232
523808	AATATTGGTCAGGTTTAAGA	Intrón 3	28	228018	228037	1233
523809	ATTCATCTCTTTCTTAGTT	Intrón 3	45	228818	228837	1234
523810	CCAATGATGTTACTACTACT	Intrón 3	89	229618	229637	1235
523811	GTTCCCCCAACCCCTTGGA	Intrón 3	28	230418	230437	1236
523812	TATAGGAAGTGAGATGTATG	Intrón 3	46	231218	231237	1237
523813	ATTATTCTAGAAGAAGATTT	Intrón 3	12	232018	232037	1238
523814	ATCCCCCTAGAGCAATGGTC	Intrón 3	79	232826	232845	1239
523815	GAGGCTCACATTTGGAAGAC	Intrón 3	69	233626	233645	1240
523816	TACACAAATCCAAGGCAGAG	Intrón 3	57	234447	234466	1241
523817	AGGAAGAGTGGGAGTGTTAC	Intrón 3	35	235258	235277	1242
523818	GTCCCTGACTAGGCATTTTG	Intrón 3	43	236071	236090	1243

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 3-8 y regiones intrónica-exónica de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523819	AAGCTCAATTGCAGATGCTC	Intrón 3	80	237676	237695	1244
523820	CTGTGAGTCCATTAAACCTC	Intrón 3	81	244875	244894	1245
523821	TGAAATGTGGCTAGTGTGAC	Intrón 3	51	245701	245720	1246
523822	AAAATATTGAAAGGCCCATC	Intrón 3	68	246501	246520	1247
523823	AATGTCAATAGTGCCCTATT	Intrón 3	48	247431	247450	1248
523824	ACAGTATATTCAGTCCAAGG	Intrón 3	82	248231	248250	1249
523825	TGTCTATTTAAGTTTGTTC	Intrón 3	45	250001	250020	1250
523826	TTCAAGTACTGTCATGAATA	Intrón 3	47	251214	251233	1251
523827	TTTCTTTTTCTTAACTAAG	Intrón 3	11	252041	252060	1252
523828	GTTTCTATTGTTGCCACCTT	Intrón 3	70	252841	252860	1253
523829	AAGGCCACATATTATAGTAT	Intrón 3	29	253698	253717	1254
523830	ACCTGAACATTAATTTCTT	Intrón 3	19	255397	255416	1255
523831	GAATGGGCTGAGTAGTTGAA	Intrón 3	47	256197	256216	1256
523832	TGATGAACATTGCTAATTTG	Intrón 3	26	257018	257037	1257
523833	ATCTTGCCTCGATGAAAGTT	Intrón 3	17	257818	257837	1258
523834	TTAAGTGGCACAGCCATGAT	Intrón 3	9	258774	258793	1259
523835	AATGAGTTAAGTTGGAACAC	Intrón 3	25	261294	261313	1260
523836	TCCTTAGTAGAATGCCTGGA	Intrón 3	57	263338	263357	1261
523837	TATGTAGAAAAATAAGCTGG	Intrón 3	0	266514	266533	1262
523838	GCCGAGGCAGGCACCTGAGT	Intrón 3	43	267375	267394	1263
523839	TGGTACCTATATTGAGAGGT	Intrón 4	46	269052	269071	1264
523840	TTAAGGAAAAATATAGTATA	Intrón 4	7	269854	269873	1265
523841	TTATTTATGTGTCAGGGATG	Intrón 4	28	270668	270687	1266
523842	CAAAAGTTAAGTGCTTTAGG	Intrón 4	10	271468	271487	1267
523843	TTCATAGATGTCTAAGGAAT	Intrón 4	32	273341	273360	1268
523844	ACCTGTGATTTACCTATTTT	Unión exón 5-intrón 5	18	274185	274204	1269
523845	TGCCTAGAAAACCACATAAA	Intrón 5	38	274985	275004	1270
523846	AAACATCCTCAAAGGTACCT	Intrón 5	64	275808	275827	1271
523847	CTTCCCTGAGACACACACAT	Intrón 5	35	276617	276636	1272
523848	CTTCTTCAATCTTCTCATAC	Intrón 5	33	278288	278307	1273
523849	TACCATTTTCATTTAGTTT	Unión exón 6-intrón 6	7	279088	279107	1274
523850	ATTGGCATCTTTTTCAGTGG	Intrón 6	34	279902	279921	1275
523851	TCAAGCTCACGGTTGGAGAC	Intrón 6	36	280799	280818	1276
523852	AAATGAAATCAGTATGTTGA	Intrón 6	0	281622	281641	1277

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 3-8 y regiones intrónica-exónica de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
523853	TGATTTATCACAAAGGTGCT	Intrón 6	29	282437	282456	1278
523854	AAAACAGTAGAAAAGATTAA	Intrón 6	14	284073	284092	1279
523855	CTACATCACAGCAGTCAGAA	Intrón 6	23	285187	285206	1280
523856	AAAAGATGTAAGTGTGACAT	Intrón 6	28	286349	286368	1281
				286919	286938	
523857	TTACAAGAACTGCTAAAGGG	Intrón 6	15	287151	287170	1282
523858	ATAAAGAAAAAGTTAACTGA	Intrón 6	9	287982	288001	1283
523859	AGATAATATACTTCTTCTAT	Intrón 6	4	288809	288828	1284
523860	CCTTCTTCACATGTAAATTG	Unión exón 7-intrón 7	19	290456	290475	1285
523861	TTTCTATGTAGCTTGTGGTT	Intrón 7	30	291258	291277	1286
523862	AGGCAGAGTTTTTATTGATA	Intrón 7	19	292058	292077	1287
523863	ATAGTCACCAGCCTAAGCCT	Intrón 8	28	292858	292877	1288
523864	AGACTTTTAGCATGCTTGAC	Intrón 8	56	293658	293677	1289
523865	TTTACAGCCCTACAGTTCTA	Intrón 8	7	294464	294483	1290
523866	CCAGAGAACCTGACTCCAAA	Intrón 8	6	295330	295349	1291
523867	CAGAAGAAAATATTAGACAG	Intrón 8	10	296993	297012	1292

Tabla 19

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 3-8 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
532531	TATTATACTTCTAAATTCCC	Intrón 3	70	236716	236735	1293
532532	TAAAAGCAAGAAAAAGGAAC	Intrón 3	52	236889	236908	1294
532533	CCTAATTTATATGAACAAAC	Intrón 3	56	237177	237196	1295
532534	TGCAATGCCCTTAGCCTAAAA	Intrón 3	86	238087	238106	1296
532535	CACCACCATTATTACACTAC	Intrón 3	75	238186	238205	1297
532536	AAATAAATCAGATTATTATA	Intrón 3	52	238242	238261	1298
532537	CTTAGATCTGTGCTGTCCAA	Intrón 3	81	245758	245777	1299
532538	GTTAGTGTTAGATTCTTTGA	Intrón 3	67	246152	246171	1300
532539	CATGCTCACGGCTGTGTTAC	Intrón 3	66	246248	246267	1301
532540	CCCATCAAATACTGAGTTCT	Intrón 3	86	246487	246506	1302
532541	GAAAGTAGTGATTAATGAGA	Intrón 3	38	247012	247031	1303
532542	ATTAATCAACAAGTGGCATT	Intrón 3	72	247203	247222	1304
532543	TTTAATTTTAGGGTTTAGAG	Intrón 3	48	248344	248363	1305

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 3-8 de la SEQ ID NO: 2							
5	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	SEQ ID NO
10	532544	CTTGCTACCACTAGAGCCTT	Intrón 3	69	248694	248713	1306
	532545	ACCACTGACTTATATCATTT	Intrón 3	58	248743	248762	1307
	532546	TTCCCCATTGCTAATTTTGT	Intrón 3	48	251601	251620	1308
15	532547	TCCTGAAACTTAGTAGCTGG	Intrón 3	83	253147	253166	1309
	532548	TGTCTTAAAAAGGAATAAAA	Intrón 3	52	253785	253804	1310
	532549	CCTATAATAAAGTATTGTCT	Intrón 3	70	253800	253819	1311
20	532550	ATGTAAAATGGTATAGCTAC	Intrón 3	50	254040	254059	1312
	532551	AACCCTCACACACTTCTGTT	Intrón 3	71	254064	254083	1313
	532552	ATTCTGCATAAGCAGTGTTT	Intrón 3	53	254246	254265	1314
25	532553	TTACTACCCTGAAGAAGAAC	Intrón 3	35	254314	254333	1315
	532554	AAGACCTATAACTTACTACC	Intrón 3	49	254326	254345	1316
	532555	TTTACAAGATTTACTTGGT	Intrón 3	77	254641	254660	1317
30	532556	CAGTTGTGATTGTCAACCTA	Intrón 3	77	257073	257092	1318
	532557	AATCTTGCCTCGATGAAAGT	Intrón 3	57	257819	257838	1319
	532558	TGGCCTAAATGTATCAGTTA	Intrón 3	66	259157	259176	1320
35	532559	AGGCTTTGGGTAAAATCTTT	Intrón 3	67	259184	259203	1321
	532560	TATGATTTTTTAAAGATTAAA	Intrón 3	20	261419	261438	1322
	532561	GTACAGTGAAAAAGATGTGT	Intrón 3	56	263666	263685	1323
40	532562	GACAGGTATGAAGCAAAACA	Intrón 3	64	267033	267052	1324
	532563	TGAGCTGAGGGTCTTTGCCG	Intrón 3	61	267391	267410	1325
	532564	AGGCTGAGTTGTACACAAAC	Intrón 4	52	269422	269441	1326
45	532565	ATGAGGAGGCTGAGTTGTAC	Intrón 4	43	269428	269447	1327
	532566	TCATAAAGTGGGCCAGCTT	Intrón 4	70	270044	270063	1328
	532567	ACTCCTAATCCCTCAGTTTT	Intrón 4	62	270492	270511	1329
50	532568	TTTACATGCAAGGAGCTGAG	Intrón 4	61	271047	271066	1330
	532569	TAATGCCCTTTCTCCCTACT	Intrón 4	60	271215	271234	1331
	532570	CCTGTTTAGATTATCCCAAA	Intrón 4	62	271763	271782	1332
55	532571	CATGATTCACAGAATTTCTC	Intrón 4	56	271831	271850	1333
	532572	AGTTAGAAAACCTCAAAGTAT	Intrón 4	2	271915	271934	1334
	532573	TCAAATGTACTTAGCATAAG	Intrón 4	9	271947	271966	1335
60	532574	ATATCAAATGTACTTAGCAT	Intrón 4	59	271950	271969	1336
	532575	AAAGTTCAGAAGAGGGAATG	Intrón 4	51	273233	273252	1337
	532576	AATTCCCATCTGAGTAGTTT	Intrón 4	56	273440	273459	1338
65	532577	GTCCCCTAATTTCAGGCTAA	Intrón 4	31	273471	273490	1339
	532578	CTATGTCAAATGAAACAAAA	Intrón 5	38	274205	274224	1340

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a intrones 3-8 de la SEQ ID NO: 2						
	Nº ISIS	Secuencia	Región objetivo	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada
5	532579	TGATTATGCTTTGTGATAAA	Intrón 5	42	274624	274643
10	532580	TCCAGCTGACTAGGAGGGCT	Intrón 5	7	275732	275751
	532581	CATACCAGTCTCCTCGCTCA	Intrón 5	0	276738	276757
15	532582	ATATAACAGAATCCAACCAT	Intrón 5	47	277045	277064
					278361	278380
	532583	TGCAAAATGGCCAAACTACA	Intrón 5	56	277577	277596
	532584	TCTTCCTAGCCACATGTGAT	Intrón 5	32	278227	278246
20	532585	TACCATGCTCTCTAATTGCC	Intrón 6	47	279624	279643
	532586	AGTGATCTGTGCCAGGCTGC	Intrón 6	65	279848	279867
	532587	AAGTTACAGAACAGATATCT	Intrón 6	61	280012	280031
25	532588	GTATTGTGAAAATAGTACTG	Intrón 6	45	280226	280245
	532589	AAACACTATCAAGCTCACGG	Intrón 6	54	280807	280826
	532590	TTCAAGAAAAGTCTTCAAAT	Intrón 6	24	280831	280850
30	532591	GGATCATTTCCCATGCATG	Intrón 6	52	280982	281001
	532592	ATATTATATTAAGAAAAATG	Intrón 6	4	281422	281441
	532593	CTCCCATGTTCACTTAT	Intrón 6	49	281587	281606
35	532594	CATGACATTGGTTGGGCAA	Intrón 6	43	282229	282248
	532595	AATGTTGTTGGGAAAATTGG	Intrón 6	42	282383	282402
	532596	AGCTGCAGGATACAAAGTCA	Intrón 6	49	282986	283005
40	532597	ATATCCTTTTCATGATAAAAA	Intrón 6	31	283354	283373
	532598	ATGGGCTAATATCTCTGATA	Intrón 6	50	283590	283609
	532599	ACATTACTAATAATTAGAGA	Intrón 6	0	285236	285255
45	532600	ATAAAACATATGAAAGTAT	Intrón 6	12	287093	287112
	532601	TTCTGAATTAAATCTATTAG	Intrón 6	16	287408	287427
	532602	TTACATTTTTGCAATTTAT	Intrón 6	31	287472	287491
50	532603	TGAACAGTTGATTAACAAAG	Intrón 6	15	287887	287906
	532604	AAGTTATTGGTTTACTAGAT	Intrón 6	0	288598	288617
	532605	TTGGAAAAGGTCCTAGAAAA	Intrón 6	24	289808	289827
55	532606	CATGACAGAACTTCTTAGA	Intrón 7	25	292035	292054
	532607	CCATACTTGCTGACAAATAT	Intrón 8	39	294389	294408

Ejemplo 2: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR humana en células Hep3B por gapmers MOE

Los gapmers del Ejemplo 1 que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Las células se colocaron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,625 µM, 1,25 µM, 2,50 µM,

5,00 μM y 10,00 μM de oligonucleótido antisentido, como se especifica en las Tablas siguientes. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC_{50}) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 20

Nº ISIS	0.625 μM	1.250 μM	2.50 μM	5.00 μM	10.00 μM	IC_{50} (μM)
523271	41	61	73	86	92	0.8
523274	20	36	64	80	92	1.8
523324	35	45	68	91	90	1.2

Tabla 21

Nº ISIS	0.625 μM	1.250 μM	2.50 μM	5.00 μM	10.00 μM	IC_{50} (μM)
523604	21	42	68	58	86	2.0
523577	6	22	56	66	91	2.7
523614	14	44	61	84	87	1.9
523564	4	26	48	67	86	2.8
523633	30	43	71	82	84	1.4
523571	2	9	38	55	82	3.9

Tabla 22

Nº ISIS	0.625 μM	1.250 μM	2.50 μM	5.00 μM	10.00 μM	IC_{50} (μM)
523570	25	50	64	77	88	1.5
523592	27	42	59	79	88	1.7
523595	21	50	62	76	90	1.6
523596	36	47	62	75	77	1.4
523607	49	62	71	82	84	0.5
523615	20	49	63	83	91	1.6
523630	4	28	54	79	78	2.6
523661	4	34	48	73	79	2.7
523665	4	28	54	73	79	2.7
523687	30	56	61	78	81	1.4
523711	42	66	78	94	95	0.7
523712	6	37	60	72	89	2.3
523713	4	32	55	72	85	2.5
523714	59	75	88	95	97	0.2

Tabla 23

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523655	26	33	60	67	78	2.1
523656	19	33	45	69	87	2.4
523658	0	42	62	67	79	3.1
523715	78	90	92	93	95	<0.6
523718	30	46	67	84	92	1.4
523723	56	69	83	92	94	0.3
523725	45	64	79	89	95	0.6
523726	32	48	77	88	89	1.2
523736	0	64	75	90	96	1.5
523747	48	64	80	91	92	0.6
523758	25	39	61	74	84	1.9
523766	7	37	66	81	93	2.0
523776	26	54	72	78	83	1.3
523789	62	68	81	85	90	0.2

Tabla 24

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523719	24	46	65	84	93	1.5
523720	18	49	72	85	93	1.5
523724	43	61	77	91	91	0.7
523735	8	42	63	81	93	2.0
523740	37	58	72	83	88	1.0
523752	9	29	52	72	86	2.5
523763	8	32	57	70	80	2.6
523764	43	52	67	77	79	0.9
523765	24	48	62	88	4	1.5
523767	49	62	67	72	82	0.6
523772	29	39	54	62	61	2.7
523774	28	59	63	88	91	1.2
523778	25	32	63	78	84	1.9
523783	0	22	53	72	88	2.8

Tabla 25

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532151	57	69	76	85	88	<0.6
532153	23	43	54	80	86	1.8
532158	46	58	81	87	87	0.6

ES 2 787 600 T3

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532160	17	26	55	76	92	2.2
532162	14	46	71	83	93	1.7
532164	37	76	82	90	93	0.6
532171	41	81	67	81	83	<0.6
532181	56	81	84	89	93	0.2
532186	26	65	75	83	91	1.1
532188	51	68	80	89	93	<0.6
532189	24	31	52	75	86	2.1
532197	0	40	66	85	93	2.1
532199	24	37	50	73	87	2.1
532222	12	41	67	84	94	1.8

Tabla 26

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532175	41	54	76	84	89	0.9
532223	53	69	75	88	94	<0.6
532235	43	58	67	77	82	0.8
532241	39	53	62	73	87	1.2
532248	49	65	72	85	93	0.6
532254	52	62	85	87	92	<0.6
532300	20	29	49	66	78	2.7
532304	26	39	66	78	90	1.7
532316	41	66	76	86	94	0.7
532395	32	56	84	93	97	1.0
532401	47	80	92	96	98	<0.6
532411	73	90	94	97	98	<0.6
532420	38	49	82	85	97	1.0
532436	37	58	75	90	96	0.9

Tabla 27

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532410	66	83	92	94	97	<0.6
532468	45	68	78	93	94	0.6
532469	0	17	56	76	92	2.8
532470	10	34	62	84	94	2.0
532475	13	36	52	64	87	2.5
532476	34	64	73	79	93	0.9

ES 2 787 600 T3

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532480	28	54	67	78	87	1.4
532482	21	39	69	83	92	1.7
532490	42	60	68	84	93	0.9
532500	37	50	63	81	87	1.2
532506	13	41	66	75	89	1.9
532507	47	59	71	86	89	0.7
532508	0	31	73	83	89	2.2
532526	31	56	78	79	88	1.1

Tabla 28

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532495	59	74	81	87	95	<0.6
532501	49	53	71	83	84	0.7
532534	53	75	85	91	97	<0.6
532535	0	34	61	84	92	2.6
532537	49	67	80	90	94	<0.6
532540	59	70	87	93	95	<0.6
532547	57	71	81	91	92	<0.6
532555	48	36	61	72	85	1.3
532556	33	57	67	86	90	1.1

Tabla 29

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523421	32	57	81	82	88	1.0
533006	46	43	69	83	91	1.0
533121	53	75	75	88	93	<0.6
533122	65	77	82	90	93	<0.6
533123	39	71	84	91	95	0.6
533125	49	61	81	85	91	0.6
533131	3	57	59	82	90	1.9
533136	32	65	62	81	88	1.1
533139	13	51	72	90	94	1.5
533140	36	66	39	87	92	1.2
533153	50	65	83	89	90	<0.6
533156	43	64	74	85	90	0.7
533160	57	80	87	91	95	<0.6
533161	54	62	81	89	92	<0.6

Tabla 30

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
533234	50	70	86	93	95	<0.6
533237	5	45	63	84	93	1.9
533233	43	55	76	90	95	0.8
533179	31	63	75	87	87	1.0
533178	53	67	76	89	94	<0.6
533187	5	15	53	79	86	2.7
533188	49	68	83	89	94	<0.6
533271	45	66	85	92	94	0.6
533134	22	45	64	81	89	1.6
533258	52	72	88	93	95	<0.6
533235	50	54	75	82	90	0.7
533262	23	54	78	91	96	1.2
533189	48	66	78	82	88	<0.6
533193	38	53	72	77	91	1.0

Tabla 31

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
533259	63	78	84	90	92	<0.6
533291	25	57	75	86	96	1.2
533256	67	76	90	95	95	<0.6
533269	42	75	82	94	97	0.6
533265	67	78	91	95	97	<0.6
533318	16	45	77	87	95	1.5
533257	55	84	91	96	96	<0.6
533280	34	62	80	91	91	0.9
533301	52	77	84	93	96	<0.6
533316	41	50	79	93	94	0.9
533270	62	71	88	94	97	<0.6
533330	46	76	93	97	98	<0.6
533317	55	60	82	87	96	<0.6
533315	39	56	82	87	93	0.9

Tabla 32

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
533364	71	77	92	90	94	<0.6
533925	26	55	61	85	91	1.4
533326	54	77	80	93	95	<0.6

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
533916	18	62	69	83	93	1.4
533328	52	68	89	94	98	<0.6
533932	42	49	80	86	92	0.9
533352	42	82	88	93	94	<0.6
533917	20	37	57	78	84	2.0
533331	54	83	89	93	96	<0.6
533936	21	46	73	84	88	1.5
533329	56	73	84	92	98	<0.6
533937	26	32	79	86	94	1.5
533908	58	66	81	88	94	<0.6
533898	61	64	84	90	92	<0.6

Tabla 33

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539371	32	41	82	92	98	1.2
539382	18	58	74	91	97	1.3
539392	34	59	79	94	96	0.9
539398	31	53	89	94	98	1.0
539399	31	72	87	95	97	0.8
539400	36	60	79	93	97	0.9
539405	33	58	74	91	94	1.0
539412	23	61	80	93	95	1.1
539413	53	75	86	92	96	<0.6
539415	47	62	84	91	96	0.6
539416	61	85	94	97	96	<0.6
539430	24	48	68	80	93	1.5
539431	14	40	71	89	95	1.7
539433	46	67	74	92	95	0.6

Ejemplo 3: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR humana en células Hep3B por los gapmers MOE

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición significativa *in vitro* del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Las células se sembraron a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,3125 µM, 0,625 µM, 1,25 µM, 2,50 µM, 5,00 µM y 10,00 µM de oligonucleótido antisentido, como se especifica en las Tablas siguientes. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

5

Tabla 34

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523814	0	24	48	52	68	82	2.2
523805	13	29	55	0	79	85	1.5
523822	0	19	26	41	65	85	2.8
523820	0	19	29	58	74	86	2.3
523815	3	6	19	37	45	71	4.8
523828	12	19	32	51	64	74	2.7
523801	3	9	31	43	59	76	3.3
523824	12	28	44	63	77	85	1.7
523794	13	21	30	51	66	78	2.5
523810	15	34	55	72	78	86	1.3
523819	0	24	40	60	66	75	2.4

10

15

20

25

Tabla 35

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539302	31	56	80	92	97	98	0.5
539314	16	28	49	69	85	95	1.3
539319	8	30	45	71	90	94	1.4
539320	11	42	64	83	92	95	1.0
539321	25	48	64	82	95	97	0.8
539322	19	34	58	72	90	96	1.1
539331	7	14	46	69	88	96	1.6
539355	28	35	67	89	96	98	0.8
539358	12	39	56	80	93	98	1.1
539359	15	23	58	77	93	98	1.2

30

35

40

45

Tabla 36

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539318	23	21	56	73	88	94	1.2
539325	14	26	38	74	92	98	1.4
539339	18	23	58	83	92	98	1.1
539341	17	29	62	84	94	95	1.0
539342	20	31	43	71	90	95	1.2
539352	15	23	41	61	89	95	1.5
539356	24	46	62	83	90	97	0.8
539361	37	42	73	88	96	98	0.6
539379	53	66	83	96	96	98	0.2

50

55

60

65

(continuación)

Nº ISIS	0.3125 μ M	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
539380	52	77	91	97	97	99	0.1
539383	34	61	71	89	98	98	0.5

Tabla 37

Nº ISIS	0.3125 μ M	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
539360	45	60	81	94	97	98	0.3
539362	21	36	72	90	98	99	0.8
539375	23	36	66	85	95	99	0.9
539376	26	35	58	82	95	99	0.9
539377	29	31	43	64	85	89	1.3
539378	37	59	81	93	97	98	0.4
539389	34	61	61	87	95	97	0.5
539401	34	52	63	84	92	95	0.6
539403	52	73	83	94	97	98	0.1
539404	22	55	74	88	94	96	0.6
539432	32	50	75	86	94	96	0.6

Ejemplo 4: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR humana en células Hep3B por gapmers MOE

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas mostradas a continuación. Las células se sembraron a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,625 μ M, 1,25 μ M, 2,50 μ M, 5,00 μ M y 10,00 μ M de oligonucleótido antisentido, como se especifica en las Tablas siguientes. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 38

Nº ISIS	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
523271	26	41	80	89	94	1.4
523274	13	35	63	85	95	1.9
523324	26	40	64	88	95	1.6
523577	27	50	72	87	95	1.3
523604	49	66	74	81	87	0.5
523614	43	54	82	92	89	0.8

Tabla 39

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523564	16	48	69	75	91	1.7
523570	24	52	65	71	88	1.6
523592	6	31	52	65	81	2.8
523595	13	49	60	79	92	1.8
523596	20	49	62	71	75	1.9
523607	38	63	66	74	76	0.8
523615	17	48	60	80	92	1.8
523630	19	42	42	67	80	2.5
523633	41	69	78	79	80	0.6
523665	16	45	56	71	80	2.1
523687	37	59	73	75	78	0.9
523711	33	63	78	91	93	0.9
523712	13	36	61	78	87	2.1
523714	63	85	91	96	96	<0.6

Tabla 40

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523655	28	42	57	74	76	1.9
523656	33	43	53	74	88	1.7
523661	29	29	66	79	82	1.9
523713	35	45	64	83	87	1.3
523715	83	86	92	93	94	<0.6
523718	27	52	69	84	95	1.3
523723	65	74	86	85	94	<0.6
523725	37	63	78	78	92	0.8
523726	43	57	72	86	89	0.8
523736	39	65	80	88	95	0.8
523747	51	71	83	86	93	<0.6
523766	30	50	70	82	89	1.3
523776	45	59	67	79	84	0.7
523789	63	75	76	83	83	<0.6

Tabla 41

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523719	18	40	56	73	83	2.1
523720	36	46	59	64	89	1.5
523724	44	60	75	81	87	0.7

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523735	11	40	60	78	84	2.1
523740	17	47	61	80	81	1.8
523752	25	31	38	70	84	2.5
523758	23	48	58	72	80	1.8
523763	2	24	48	64	75	3.3
523764	22	49	45	73	75	2.1
523765	42	40	57	79	87	1.4
523767	43	53	56	69	79	1.2
523774	36	52	71	81	89	1.1
523778	15	45	59	75	79	2.0
523783	5	30	48	66	83	2.9

Tabla 42

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532151	40	45	64	71	82	1.3
532158	28	47	63	70	87	1.6
532164	36	47	64	75	89	1.3
532171	35	47	50	69	89	1.6
532175	27	38	43	75	87	2.1
532181	21	56	63	69	80	1.7
532186	28	49	62	73	91	1.5
532188	40	52	73	75	90	1.0
532223	22	34	53	71	90	2.2
532235	35	31	48	68	73	2.3
532241	6	24	29	51	72	4.5
532248	19	37	47	73	84	2.3
532254	56	56	72	85	90	0.5
532316	32	55	50	78	90	1.5

Tabla 43

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532304	44	57	68	78	73	0.7
532395	47	62	82	91	96	0.6
532401	70	83	91	94	96	<0.6
532410	56	71	85	90	96	<0.6
532411	88	93	96	97	98	<0.6
532420	61	67	82	85	96	<0.6

ES 2 787 600 T3

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
532436	48	49	77	90	97	0.8
532468	42	67	82	89	94	0.6
532476	32	58	75	84	90	1.1
532482	5	26	56	71	87	2.6
532490	18	47	55	69	86	2.0
532501	4	22	43	59	77	3.5
532507	39	63	66	83	89	0.9
532526	30	48	67	82	88	1.4

Tabla 44

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
533121	59	67	78	83	87	0.2
533122	48	73	78	84	90	0.4
533125	47	61	74	89	89	0.6
533136	5	25	58	79	90	2.4
533156	37	48	69	77	87	1.2
533161	28	67	77	89	90	1.0
533178	30	60	72	90	92	1.1
533179	37	66	76	76	87	0.8
533188	32	64	74	80	90	1.0
533189	49	66	77	81	81	0.4
533193	26	48	69	75	85	1.5
533233	39	60	59	84	93	1.0
533234	45	69	84	91	94	0.5
533235	28	49	69	82	90	1.4

Tabla 45

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
533256	47	72	86	90	94	<0.6
533257	63	77	88	91	96	<0.6
533258	66	81	88	95	95	<0.6
533259	48	70	84	90	93	<0.6
533262	44	66	79	90	96	0.7
533265	59	74	85	93	96	<0.6
533269	25	55	74	86	87	1.2
533270	34	59	73	86	95	1.0
533271	63	82	88	92	92	<0.6

(continuación)

Nº ISIS	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
533291	14	46	64	84	89	1.8
533301	49	61	75	83	91	0.6
533315	22	39	73	76	91	1.7
533317	26	53	68	85	94	1.3
533318	29	40	46	77	91	1.9

Tabla 46

Nº ISIS	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
533280	58	64	77	82	87	0.3
533316	35	55	68	87	91	1.1
533326	34	68	76	89	96	0.8
533328	54	55	79	83	92	0.5
533329	46	62	72	83	95	0.7
533330	56	75	83	91	94	0.3
533331	54	61	80	86	89	0.4
533352	54	62	79	83	89	0.4
533364	52	73	83	91	94	0.4
533898	17	47	63	78	87	1.8
533908	35	58	74	82	87	1
533916	22	46	72	78	88	1.6
533932	51	62	70	79	80	0.5
533937	20	40	61	79	85	1.9

Ejemplo 5: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR humana en células Hep3B por gapmers MOE

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Las células se sembraron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de 0,3125 μ M, 0,625 μ M, 1,25 μ M, 2,50 μ M, 5,00 μ M y 10,00 μ M de oligonucleótido antisentido, como se especifica en las Tablas siguientes. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 47

Nº ISIS	0.3125 μ M	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
523577	0	16	33	59	72	94	2.2
523633	15	33	66	73	82	86	1.1
523764	11	33	50	68	78	83	1.5

ES 2 787 600 T3

(continuación)

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523794	12	30	33	56	76	82	1.9
523805	21	48	66	78	85	92	0.8
523810	18	36	61	80	89	90	1.0
523814	13	35	52	67	81	88	1.3
523819	11	30	57	72	81	89	1.3
523820	0	15	43	61	84	92	1.8
523824	21	27	59	72	84	90	1.2

Tabla 48

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539302	34	41	56	83	83	96	0.8
539321	30	32	76	73	80	94	0.8
539322	22	36	57	72	78	94	1.1
539355	23	42	48	72	71	88	1.2
539359	21	38	48	73	78	92	1.2
539320	14	32	53	72	82	91	1.3
539341	3	19	35	56	78	89	2.0
539342	6	18	33	51	70	83	2.3
539356	0	0	21	45	73	94	2.7
539358	0	15	23	50	52	91	2.9

Tabla 49

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539339	22	37	52	77	90	92	1.0
539360	28	49	72	82	95	97	0.7
539361	36	56	75	86	95	98	0.5
539362	24	26	63	77	91	97	1.0
539375	21	29	39	63	77	91	1.5
539378	8	42	64	85	92	97	1.0
539379	43	59	80	89	96	98	0.3
539380	61	73	90	95	98	98	0.1
539383	30	49	75	87	97	98	0.6
539403	48	55	75	85	94	96	0.3
539432	36	42	69	79	88	95	0.7

Tabla 50

Nº ISIS	0.3125 µM	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539376	34	46	62	82	94	98	0.7
539389	53	58	78	86	94	97	0.2
539392	1	19	26	68	81	94	1.9
539399	27	52	65	78	92	98	0.7
539400	7	26	43	59	88	95	1.6
539401	32	39	77	90	92	95	0.6
539404	22	59	77	87	93	95	0.6
539413	16	33	53	82	86	96	1.1
539415	4	44	56	74	81	94	1.2
539416	37	61	70	85	92	95	0.4
539433	31	52	70	85	87	94	0.6

Ejemplo 6: inhibición antisentido del receptor de la hormona del crecimiento humano en células Hep3B por gapmers desoxi, MOE y cEt

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos a un ácido nucleico del receptor de la hormona del crecimiento (GHR) y se analizaron sus efectos sobre el ARNm de GHR in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Se transfectaron células Hep3B cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 5.000 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR por PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas a continuación se diseñaron como gapmers de desoxi, MOE y cEt. Los oligonucleótidos desoxi, MOE y cEt tienen una longitud de 16 nucleósidos en donde el nucleósido tiene o una modificación de azúcar MOE, una modificación de azúcar cEt o una modificación desoxi. La columna 'Química' describe las modificaciones de azúcar de cada oligonucleótido. 'k' indica una modificación de azúcar cEt; 'd' indica desoxirribosa; y 'e' indica una modificación MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gapmer son 5-metilcitosinas. El "sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen humano. El "sitio de detención" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen humano. Cada gapmer enumerado en las tablas siguientes está dirigido al ARNm de GHR humana, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de registro GENBANK NM_000163.4) o la secuencia genómica de GHR humana, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de registro GENBANK NT_006576.16 truncado de los nucleótidos 42411001 a 42714000). 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100% de complementariedad. En caso de que no se muestre la alineación de secuencia para un gen objetivo en una tabla particular, se entiende que ninguno de los oligonucleótidos presentados en esa tabla se alinea con una complementariedad del 100% con ese gen objetivo.

Tabla 51

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							SEQ ID NO
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	
541262	n/a	Intrón 2	TTGGTTTGTCAATCCT	eeekddddd	84	156891	1370
541263	164	Intrón 1	CCGAGCTTCGGCCTCTG	eeekddddd	89	3040	1371
541264	167	Intrón 1	CTCCGAGCTTCGCCT	eeekddddd	90	3043	1372
541265	170	Unión abarca dos exones	GGACCTCCGAGCTTCG	eeekddddd	89	n/a	1373
541266	176	Unión abarca dos exones	CCTGTAGGACCTCCGA	eeekddddd	83	n/a	1374
541268	214	Exón 2	CCAGTGCCCAAGGTCAA	eeekddddd	87	144998	1375
541269	226	Exón 2	CAC TTGATCCTGCCAG	eeekddddd	67	145010	1376
541270	244	Exón 2	CAC TTCCAGAAAAAGC	eeekddddd	34	145028	1377
541278	365	Exón 4/Intrón 3	GTCTCTCGCTCAGGTG	eeekddddd	77	268028	1378
541279	368	Exón 4/Intrón 3	AAAGTCTCTCGCTCAG	eeekddddd	76	268031	1379
541280	373	Exón 4/Intrón 3	ATGAAAAAGTCTCTCG	eeekddddd	66	268036	1380
541283	445	Unión exón 2-exón 3	TCCTTCTGGTATAGAA	eeekddddd	37	n/a	1381
541288	554	Exón 5	CAATAAGGTATCCAGA	eeekddddd	49	274114	1382
541289	561	Exón 5	CTTGATACAA TAAAGT	eeekddddd	66	274121	1383
541290	569	Exón 5	CTAGTTAGCTTGATAC	eeekddddd	61	274129	1384
541293	628	Unión exón 3-exón 4	GATCTGGTTGCACTAT	eeekddddd	57	n/a	1385
541294	639	Exón 6	GGCAATGGGTGGATCT	eeekddddd	38	278933	1386
541295	648	Exón 6	CCAGTTGAGGGCAATG	eeekddddd	67	278942	1387
541296	654	Exón 6	TAAAGTCCAGTTGAGG	eeekddddd	43	278948	1388
541301	924	Exón 7	TACATAGAGCACCTCA	eeekddddd	86	290422	1389
541302	927	Exón 7	TGTTACATAGAGCAC	eeekddddd	78	290425	1390
541303	930	Exón 7	AAGTGTACATAGAGC	eeekddddd	59	290428	1391
541304	958	Exón 7	CTTCACATGTAAATTG	eeekddddd	26	290456	1392
541305	981	Exón 8	GAGCCATGGAAAGTAG	eeekddddd	66	292535	1393

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541310	1127	Unión exón 7-exón 8	CCTTCCTTGAGGAGAT	eeekdddddiddddkke	26	n/a	1394
541320	1317	Exón 10	CTTCACCCCTAGGTTA	eeekdddddiddddkke	38	297734	1395
541321	1322	Exón 10	CCATCCTTCACCCCTA	eeekdddddiddddkke	81	297739	1396
541322	1326	Exón 10	GTCGCCATCCTTCACC	eeekdddddiddddkke	79	297743	1397
541323	1331	Exón 10	CCAGAGTCGCCATCCT	eeekdddddiddddkke	64	297748	1398
541325	1420	Exón 10	GTGGCTGAGCAACCTC	eeekdddddiddddkke	79	297837	1399
541326	1434	Exón 10	CCCTTTTAACCTCTGT	eeekdddddiddddkke	67	297851	1400
541331	1492	Exón 10	CATCATGATAAGGTGA	eeekdddddiddddkke	16	297909	1401
541332	1526	Exón 10	TGGATAACACTGGGCT	eeekdddddiddddkke	30	297943	1402
541333	1532	Exón 10	TCTGCTTGGATAACAC	eeekdddddiddddkke	63	297949	1403
541335	1597	Exón 10	GAATATGGGCAGCTTG	eeekdddddiddddkke	33	298014	1404
541336	1601	Exón 10	AGCTGAATA TGGGCAG	eeekdddddiddddkke	34	298018	1405
541337	1607	Exón 10	TTGCTTAGCTGAATAT	eeekdddddiddddkke	39	298024	1406
541338	1611	Exón 10	TGGATTGCTTAGCTGA	eeekdddddiddddkke	79	298028	1407
541339	1614	Exón 10	ACTTGGATTGCTTAGC	eeekdddddiddddkke	73	298031	1408

Ejemplo 7: inhibición antisentido del receptor de la hormona del crecimiento humano en células Hep3B por gapmers desoxi, MOE y cEt

Se diseñaron oligonucleótidos antisentido adicionales dirigidos a un ácido nucleico del receptor de la hormona del crecimiento (GHR) y se analizaron sus efectos sobre el ARNm de GHR in vitro. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Se transfectaron células Hep3B cultivadas a una densidad de 20.000 células por pocillo usando electroporación con oligonucleótido antisentido 4.500 nM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 24 horas, se aisló ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR por PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

Los oligonucleótidos antisentido quiméricos de nuevo diseño en las Tablas a continuación se diseñaron como gapmers de desoxi, MOE y cEt. Los oligonucleótidos desoxi, MOE y cEt tienen una longitud de 16 nucleósidos en donde el nucleósido tiene una modificación de azúcar MOE, una modificación de azúcar cEt o una modificación desoxi. La columna 'Química' describe las modificaciones de azúcar de cada oligonucleótido. 'k' indica una modificación de azúcar cEt; 'd' indica desoxirribosa; y 'e' indica una modificación MOE. Los enlaces internucleosídicos a lo largo de cada gapmer son enlaces de fosforotioato (P=S). Todos los residuos de citosina en cada gapmer son 5-metilcitosinas. El "sitio de inicio" indica el nucleósido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen humano. El "sitio de detención" indica el nucleósido más 3' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen humano. Cada gapmer enumerado en las tablas siguientes está dirigido al ARNm de GHR humana, designado en la presente como SEQ ID NO: 1 (Nº de registro GENBANK NM 000163.4) o la secuencia genómica de GHR humana, designada en la presente como SEQ ID NO: 2 (Nº de registro GENBANK NT_006576.16 truncado de los nucleótidos 42411001 a 42714000). 'n/a' indica que el oligonucleótido antisentido no se dirige a esa secuencia génica particular con un 100% de complementariedad. En caso de que no se muestre la alineación de secuencia para un gen objetivo en una tabla particular, se entiende que ninguno de los oligonucleótidos presentados en esa tabla se alinea con una complementariedad del 100% con ese gen objetivo. Los oligonucleótidos de la Tabla 54 no se dirigen a las SEQ ID NO: 1 o 2, sino que se dirigen a las secuencias de genes variantes de la SEQ ID NO: 4 (Nº de Registro GENBANK DR006395.1) o la SEQ ID NO: 7 (el complemento de Nº de registro GENBANK AA398260.1).

Tabla 52

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ IDNO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541262	n/a	Intrón 2	TTGGTTTGTCAATCCT	eekdddddddkke	86	156891	1370
541340	1619	Exón 10	AGTGAACCTGGATTGC	eekdddddddkke	73	298036	1409
541341	1641	Exón 10	GGCATAAAAGTCGATG	eekdddddddkke	41	298058	1410
541342	1644	Exón 10	CTGGGCATAAAAGTCG	eekdddddddkke	33	298061	1411
541343	1683	Exón 10	GGAAAGGACCACACTA	eekdddddddkke	34	298100	1412
541344	1746	Exón 10	GAGTGAGACCATTTCC	eekdddddddkke	65	298163	1413
541345	1827	Exón 10	GATGTGAGGAGCCACA	eekdddddddkke	54	298244	1414
541346	1830	Exón 10	CTTGATGTGAGGAGCC	eekdddddddkke	70	298247	1415
541347	1835	Exón 10	TCAACCTTGATGTGAG	eekdddddddkke	38	298252	1416

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541348	1839	Exón 10	TGATTCAACCTTGATG	eekdddddddddkke	39	298256	1417
541349	1842	Exón 10	GTGTGATTCAACCTTG	eekdddddddddkke	74	298259	1418
541350	1845	Exón 10	TATGTGTGATTCAACC	eekdddddddddkke	58	298262	1419
541351	1949	Exón 10	GGCATCTCAGAACCTG	eekdddddddddkke	41	298366	1420
541352	1965	Exón 10	GGTATAGTCTGGGACA	eekdddddddddkke	18	298382	1421
541353	1969	Exón 10	TGGAGGTATAGTCTGG	eekdddddddddkke	17	298386	1422
541354	1972	Exón 10	GAATGGAGGTATAGTC	eekdddddddddkke	0	298389	1423
541355	1975	Exón 10	TATGAATGGAGGTATA	eekdddddddddkke	0	298392	1424
541356	1978	Exón 10	CTATATGAATGGAGGT	eekdddddddddkke	30	298395	1425
541357	1981	Exón 10	GTAATATGAATGGA	eekdddddddddkke	43	298398	1426
541358	1987	Exón 10	GGGACTGTACTATATG	eekdddddddddkke	12	298404	1427
541369	2306	Exón 10	TTACATTGCACAATAG	eekdddddddddkke	21	298723	1428
541373	2667	Exón 10	TAGCCATGCTTGAAGT	eekdddddddddkke	34	299084	1429
541374	2686	Exón 10	TGTGTAGTGAATATA	eekdddddddddkke	10	299103	1430
541375	2690	Exón 10	ACAGTGTGTAGTGTA	eekdddddddddkke	82	299107	1431
541376	2697	Exón 10	GCAGTACACAGTGTGT	eekdddddddddkke	46	299114	1432
541377	2700	Exón 10	ACTGCAGTACACAGTG	eekdddddddddkke	32	299117	1433
541378	2740	Exón 10	TTAGACTGTAGTTGCT	eekdddddddddkke	25	299157	1434
541379	2746	Exón 10	CCAGCTTTAGACTGTA	eekdddddddddkke	69	299163	1435
541380	2750	Exón 10	TAAACCAGCTTTAGAC	eekdddddddddkke	20	299167	1436

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541381	2755	Exón 10	AACATTAAACCAGCTT	eeekdddddddddkke	64	299172	1437
541382	2849	Exón 10	ACTACAATCATTTTAG	eeekdddddddddkke	0	299266	1438
541383	2853	Exón 10	GATTACTACAATCATT	eeekdddddddddkke	0	299270	1439
541384	2859	Exón 10	AATGCAGATTACTACA	eeekdddddddddkke	46	299276	1440
541385	2865	Exón 10	TCCAATAATGCAGATT	eeekdddddddddkke	52	299282	1441
541386	2941	Exón 10	GTTGATCTGTGCAAAC	eeekdddddddddkke	74	299358	1442
541389	3037	Exón 10	TCTACTTCTCTTAGCA	eeekdddddddddkke	50	299454	1443
541393	3215	Exón 10	GCTTCTTGACCTTAT	eeekdddddddddkke	84	299632	1444
541394	3237	Exón 10	GATTTGCTTCAACTTA	eeekdddddddddkke	47	299654	1445
541395	3305	Exón 10	GGTTATAGGCTGTGAA	eeekdddddddddkke	0	299722	1446
541396	3308	Exón 10	TCTGGTTATAGGCTGT	eeekdddddddddkke	88	299725	1447
541397	3311	Exón 10	GTGTCTGGTTATAGGC	eeekdddddddddkke	56	299728	1448
541398	3316	Exón 10	AGTATGTGTCTGGTTA	eeekdddddddddkke	76	299733	1449
541399	3371	Exón 10	GGGACTGAAAACCTTG	eeekdddddddddkke	50	299788	1450
541400	3975	Exón 10	AGTATTCTTCACTGAG	eeekdddddddddkke	36	300392	1451
541401	4044	Exón 10	GCGATAAATGGGAAAT	eeekdddddddddkke	36	300461	1452
541402	4048	Exón 10	GTCTGCGATAAATGGG	eeekdddddddddkke	52	300465	1453
541403	4058	Exón 10	CCTAAAAAAGGTCTGC	eeekdddddddddkke	51	300475	1454
541404	4072	Exón 10	CATTAAGCTTGCTTCC	eeekdddddddddkke	53	300489	1455

Tabla 53

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de Inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de Inicio	SEQ ID NO
541262	n/a	Intrón 2	TTGGTTTGTCATCCT	eeekddddd	85	156891	1370
541421	4418	Exón 10	CACAAC TAGTCATACT	eeekddddd	42	300835	1456
541422	4428	Exón 10	AACTGCCAGACACAAC	eeekddddd	68	300845	1457
541423	4431	Exón 10	ATAAACTGCCAGACAC	eeekddddd	86	300848	1458
541424	4503	Exón 10	TATCAGGAATCCAAGA	eeekddddd	11	300920	1459
541425	4521	Exón 10	TTGATAACAGAAAGCAC	eeekddddd	16	300938	1460
541426	4528	Exón 10	TTGGTGTTTGATAACA	eeekddddd	31	300945	1461
541427	4531	Exón 10	ATGTTGGTGTGTTGATA	eeekddddd	32	300948	1462
541429	30	Exón 1	CCGCCACTGTAGCAGC	eeekddddd	77	2906	1463
541430	35	Exón 1	CGCCACCGCCACTGTA	eeekddddd	88	2911	1464
541431	63	Exón 1	GCCGCCCGGGCTCAGC	eeekddddd	86	2939	1465
541432	67	Exón 1	CGCCGCCCGCCGGGCT	eeekddddd	61	2943	1466
541433	144	Exón 1	GAGAGCGGGGTTTCGC	eeekddddd	57	3020	1467
541434	n/a	Exón 1/Intrón 1	CTACTGACCCCAAGTTC	eeekddddd	80	3655	1468
541435	n/a	Exón 1/Intrón 1	TCACTCTACTGACCCC	eeekddddd	90	3660	1469
541436	n/a	Exón 1/Intrón 1	TCATGCGGACTGGTGG	eeekddddd	56	3679	1470
541437	n/a	Exón 3/Intrón 3	ATGTGAGCATGGACCC	eeekddddd	82	225438	1471
541438	n/a	Exón 3/Intrón 3	TCTTGATATGTGAGCA	eeekddddd	93	225445	1472
541439	n/a	Exón 3/Intrón 3	TTCAAGTTGGTGAGCT	eeekddddd	72	226788	1473
541440	n/a	Exón 3/Intrón 3	TGCTTCCTTCAAGTTG	eeekddddd	68	226795	1474
541441	n/a	Exón 3/Intrón 3	TGTAA TTTTCATTTCATG	eeekddddd	62	226809	1475
541442	n/a	Exón 3/Intrón 3	CCTTTTGCCCAAGAGCA	eeekddddd	85	226876	1476
541443	n/a	Exón 3/Intrón 3	GATCCTTTTGCCCAAGA	eeekddddd	77	226879	1477
541444	n/a	Exón 3/Intrón 3	GC TAGTAATGTTACAT	eeekddddd	68	238331	1478

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio
541445	n/a	Exón 3/Intrón 3	GCAACTTGCTAGTAAT	eeekddddd	65	238338
541446	n/a	Exón 3/Intrón 3	TGTGCAACTTGCTAGT	eeekddddd	44	238341
541447	n/a	Exón 3/Intrón 3	GGATTTCAGTTTGAAT	eeekddddd	0	238363
541448	n/a	Exón 3/Intrón 3	CTCAGAGCCTTGGTAG	eeekddddd	65	238428
541449	n/a	Exón 1/Intrón 1	CAAAACGCGCAAAAAGAC	eeekddddd	1	3608
541450	n/a	Exón 1/Intrón 1	GCCCGCACAAACGCGC	eeekddddd	11	3615
541451	n/a	Exón 1/Intrón 1	GGTTAAAGAAATTGCT	eeekddddd	60	93190
541452	n/a	Exón 1/Intrón 1	CCCAGTGAATTCAGCA	eeekddddd	85	93245
541453	n/a	Exón 1/Intrón 1	GCGCCAGTGAAATTC	eeekddddd	74	93248
541454	n/a	Exón 1/Intrón 1	AAGATGCGCCCAAGTGA	eeekddddd	71	93253
541455	n/a	Exón 1/Intrón 1	TGTAAGATGCGCCCAAG	eeekddddd	75	93256
541456	n/a	Exón 1/Intrón 1	AATTACTTGTAAGATG	eeekddddd	15	93263
541457	n/a	Exón 1/Intrón 1	CCCAGAAAGGCACCTGT	eeekddddd	61	93302
541458	n/a	Exón 1/Intrón 1	TTGCAGAAACAAATCTT	eeekddddd	3	93333
541459	n/a	Exón 1/Intrón 1	CATGGAAGATTGTCAG	eeekddddd	17	93343
541460	n/a	Exón 1/Intrón 1	GGTCATGGAAGATTG	eeekddddd	57	93346
541461	n/a	Exón 1/Intrón 1	GACCTTGGTCATGGAA	eeekddddd	51	93352
541462	n/a	Exón 1/Intrón 1	TGCCAATCCAAAGAGG	eeekddddd	34	93369
541463	n/a	Exón 1/Intrón 1	GGGTCTGCCAATCCAA	eeekddddd	67	93374
541464	n/a	Exón 1/Intrón 1	TCCCTGGGCTGCCAA	eeekddddd	82	93379
541465	n/a	Exón 1/Intrón 1	AAGTGTGAATTTATCT	eeekddddd	16	93408
541466	n/a	Exón 1/Intrón 1	GGAGATCTCAACAAGG	eeekddddd	38	93428
541468	n/a	Exón 1/Intrón 1	TCGCCCATCACTCTTC	eeekddddd	43	93989
541469	n/a	Exón 1/Intrón 1	CCTGTGCGCCCATCACT	eeekddddd	61	93993

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio
541470	n/a	Exón 1/Intrón 1	TCACCTGTGCGCCCATC	eeekddddd	70	93996
541471	n/a	Exón 1/Intrón 1	CCATCACCTGTGCGCC	eeekddddd	89	93999
541472	n/a	Exón 1/Intrón 1	TCACCATCACCTGTGCG	eeekddddd	72	94002
541473	n/a	Exón 1/Intrón 1	TAATAGTTGTCAACCAT	eeekddddd	42	94011
541474	n/a	Exón 1/Intrón 1	TTCAGATCTTATTAAT	eeekddddd	0	94023
541475	n/a	Exón 1/Intrón 1	TTGCAAAATTCAGTCTG	eeekddddd	32	94096
541477	n/a	Exón 2/Intrón 2	CGTTCTCTTGGAAGTA	eeekddddd	78	198766
541478	n/a	Exón 2/Intrón 2	TCTTGAAATAAATTTGG	eeekddddd	25	198780
541479	n/a	Exón 2/Intrón 2	AAGCTCACTCTTCAAT	eeekddddd	60	198810
541480	n/a	Exón 2/Intrón 2	TCCAAGCTCACTCTTC	eeekddddd	49	198813
541481	n/a	Exón 2/Intrón 2	GCTCTGCCACTCTGT	eeekddddd	75	198837
541482	n/a	Exón 2/Intrón 2	ATGGGCAAAAGCATCT	eeekddddd	60	198874
541483	n/a	5'UTR	AGTCTTCCCGGCGGAGG	eeekddddd	32	2571
541484	n/a	5' y superpuesto con exón 1	CCGCCGCTCCCTAGCC	eeekddddd	73	2867
541485	n/a	Intrón 1	GCCCCGCAACTCCCTGC	eeekddddd	37	3341
541486	n/a	Intrón 1	CGCCTCCCCAGGCGCA	eeekddddd	34	4024
541487	n/a	Intrón 1	GAGTGTCTTCCCAGGC	eeekddddd	86	4446
541488	n/a	Intrón 1	CTGAAGACTCCTTGAA	eeekddddd	39	4721
541489	n/a	Intrón 1	GGCTAGCCCAAGTTGGA	eeekddddd	54	5392
541490	n/a	Intrón 1	TGACTCCAGCTTACC	eeekddddd	76	5802
541491	n/a	Intrón 1	ATTCATTGTGTCAGC	eeekddddd	91	6128
541492	n/a	Intrón 1	GAAGTGGGTTTTTCCC	eeekddddd	86	6543
541493	n/a	Intrón 1	GCCTTGGTTCAGGTGA	eeekddddd	79	6786

Tabla 54

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a las SEQ ID NO: 3 y 4						
Nº ISIS	Sitio de inicio de objetivo	SEQ ID NO de objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541428	66	3	CCACTGTAGCAGCCGC	eekdddddddkke	92	1526
541476	263	4	TAGGTATTTTCAGAGCC	eekdddddddkke	80	1527

Tabla 55

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2							SEQ ID NO
Nº ISIS	SEQ NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	
541262	156891	541277	Intrón 2	TTGGTTTGTCATCCT	eekekkkkkkkkkkkkke	80	1370
541494	7231	541509	Intrón 1	GTCCAGGCAGAGTTGT	eekekkkkkkkkkkkkke	30	1528
541495	7570	541510	Intrón 1	AGCCAAATGTTGGTCA	eekekkkkkkkkkkkkke	19	1529
541496	8395	541511	Intrón 1	GAGGGCGAGTTTTTCC	eekekkkkkkkkkkkkke	71	1530
541497	9153	541512	Intrón 1	GTGGCATTGGCAAGCC	eekekkkkkkkkkkkkke	81	1531
541498	9554	541513	Intrón 1	ACCCCACTGCACCAAG	eekekkkkkkkkkkkkke	67	1532
541499	9931	541514	Intrón 1	TCCAAGTACTTGCCAA	eekekkkkkkkkkkkkke	83	1533
541500	10549	541515	Intrón 1	AGTGCCCTGGCCTAAGG	eekekkkkkkkkkkkkke	75	1534
541501	11020	541516	Intrón 1	GCGCTTCTTCCCTAGG	eekekkkkkkkkkkkkke	71	1535
541502	11793	541517	Intrón 1	CATCTTGCCCAAGGAT	eekekkkkkkkkkkkkke	84	1536
541503	12214	541518	Intrón 1	CCATCTTGCTCCAAGT	eekekkkkkkkkkkkkke	93	1537
541504	12474	541519	Intrón 1	CTTACATCCTGTAGGC	eekekkkkkkkkkkkkke	71	1538
541505	12905	541520	Intrón 1	CGCCTCCTGGTCCTCA	eekekkkkkkkkkkkkke	97	1539
541506	13400	541521	Intrón 1	CCCTATGCACTACCTA	eekekkkkkkkkkkkkke	49	1540
541507	13717	541522	Intrón 1	GAGGGACTGTGGTGCT	eekekkkkkkkkkkkkke	65	1541
541508	14149	541523	Intrón 1	GCCCAATATGTGCCAG	eekekkkkkkkkkkkkke	60	1542
541509	14540	541524	Intrón 1	GCTCTCTCATCGCTGG	eekekkkkkkkkkkkkke	90	1543
541510	15264	541525	Intrón 1	CTCAAGGCTATGTGCC	eekekkkkkkkkkkkkke	67	1544
541511	15849	541526	Intrón 1	TCCACATCCCTCATGT	eekekkkkkkkkkkkkke	68	1545
541512	16530	541527	Intrón 1	AGGACTGAAGGCCCAT	eekekkkkkkkkkkkkke	49	1546
541513	17377	541528	Intrón 1	GTGCGACTTACCAGCT	eekekkkkkkkkkkkkke	85	1547
541514	17581	541529	Intrón 1	TCGCTAAAGCCACACA	eekekkkkkkkkkkkkke	89	1548
541515	17943	541530	Intrón 1	GCTCTGGCTGATGGTC	eekekkkkkkkkkkkkke	92	1549
541516	18353	541531	Intrón 1	TTCCCATGAGGATTC	eekekkkkkkkkkkkkke	70	1550

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi. MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
541517	18636	541532	Intrón 1	TTGGGCTTAAGCACTA	eeekdddddskke	1551
541518	19256	541533	Intrón 1	GCTAGCACCTAGTCCA	eeekdddddskke	1552
541519	19814	541534	Intrón 1	CCTCTGGCCCTACAACA	eeekdddddskke	1553
541520	20365	541535	Intrón 1	ACCCCTCATCAGCACCC	eeekdddddskke	1554
541521	20979	541536	Intrón 1	GGCCACCCCTGATCCT	eeekdddddskke	1555
541522	21566	541537	Intrón 1	GAAGCTCCCTTGCCCA	eeekdddddskke	1556
541523	22150	541538	Intrón 1	AGTGTGGCCCTCCAA	eeekdddddskke	1557
541524	22803	541539	Intrón 1	GGGTCTCCAACCTACT	eeekdddddskke	1558
541525	29049	541540	Intrón 1	GGGATGTAGGTTTACC	eeekdddddskke	1559
541526	29554	541541	Intrón 1	GCAACCGATATCACAG	eeekdddddskke	1560
541527	30245	541542	Intrón 1	TGCCCTGGAACAAATT	eeekdddddskke	1561
541528	30550	541543	Intrón 1	AGTCTAGGAGTAGCTA	eeekdddddskke	1562
541529	30915	541544	Intrón 1	GCTGTGTCAAGAGAC	eeekdddddskke	1563
541530	31468	541545	Intrón 1	CACCTAGACACTCAGT	eeekdddddskke	1564
541531	32366	541546	Intrón 1	GTCAAGGGATCCCCTGC	eeekdddddskke	1565
541532	32897	541547	Intrón 1	TCCCCCTGGCAC TCCA	eeekdddddskke	1566
541533	33187	541548	Intrón 1	GCCTGGTAAC TCCATT	eeekdddddskke	1567
541534	33780	541549	Intrón 1	GGGCTCACCAACTGTG	eeekdddddskke	1568
541535	34407	541550	Intrón 1	CCACAGGATCATATCA	eeekdddddskke	1569
541536	34846	541551	Intrón 1	CTCCAGCAGAAAGTGTC	eeekdddddskke	1570
541537	35669	541552	Intrón 1	AGCCCAACTGTTGCCT	eeekdddddskke	1571
541538	36312	541553	Intrón 1	TGCCAGGCAGTTGCCA	eeekdddddskke	1572
541539	36812	541554	Intrón 1	GCCAGTAAGCACCTTG	eeekdddddskke	1573
541540	37504	541555	Intrón 1	CTAGCTTCCAGCCCC	eeekdddddskke	1574

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2							SEQ ID NO
Nº ISIS	SEQ NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	
541541	38841	541556	Intrón 1	TCAAGCCCAGCTAGCA	eeekdddddiddk	39	1575
541542	39108	541557	Intrón 1	CCTCACAGGCCCTAAT	eeekdddddiddk	4	1576
541543	39408	541558	Intrón 1	ACCTGCTTACATGGTA	eeekdddddiddk	21	1577
541544	40250	541559	Intrón 1	CCTTTGCTAGGACCCA	eeekdddddiddk	52	1578
541545	40706	541560	Intrón 1	GGGACTGCCACCAAGG	eeekdddddiddk	27	1579
541546	40922	541561	Intrón 1	GCTAGATGTTTCAGGCC	eeekdddddiddk	34	1580
541547	41424	541562	Intrón 1	CCTATGGCCATGCTGA	eeekdddddiddk	32	1581
541548	41999	541563	Intrón 1	GTATGCTAGTTCCCAT	eeekdddddiddk	83	1582
541549	42481	541564	Intrón 1	CCCTCATATCTTGGG	eeekdddddiddk	13	1583
541550	42700	541565	Intrón 1	GTCCAACCAC TACCAC	eeekdddddiddk	74	1584
541551	43291	541566	Intrón 1	ACTTGCAGATAGCTGA	eeekdddddiddk	73	1585
541552	43500	541567	Intrón 1	GCATGACCCCACTGCC	eeekdddddiddk	72	1586
541553	43947	541568	Intrón 1	GAGGGTCACATTCCT	eeekdddddiddk	23	1587
541554	44448	541569	Intrón 1	TCTCTTACTGGTGGT	eeekdddddiddk	90	1588
541555	45162	541570	Intrón 1	GCCCCCTTCTCTGGATA	eeekdddddiddk	28	1589
541556	46010	541571	Intrón 1	CCTCATGCGACACCCAC	eeekdddddiddk	71	1590
541557	46476	541572	Intrón 1	AGCCCTCTGCCTGTAA	eeekdddddiddk	67	1591
541558	47447	541573	Intrón 1	CTCCCAGCTATAGGCG	eeekdddddiddk	38	1592
541559	47752	541574	Intrón 1	GCTAGCTGCGCAAGGA	eeekdddddiddk	5	1593
541560	48001	541575	Intrón 1	GCGCAGCCCGCTGCAA	eeekdddddiddk	18	1594
541561	48423	541576	Intrón 1	TGCATGATCCACCCCA	eeekdddddiddk	65	1595
541562	50195	541577	Intrón 1	GCTTAGTGCTGGCCCA	eeekdddddiddk	72	1596
541563	50470	541578	Intrón 1	CCCTCCAGTCTCTATA	eeekdddddiddk	81	1597
541564	51104	541579	Intrón 1	ATAGTGTCAAGGCCCA	eeekdddddiddk	91	1598

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ NO: 1 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541565	51756	541580	Intrón 1	AGGCCTTAGTCACCCA	eeekdddddiddddkke	88	1599
541566	52015	541581	Intrón 1	TAACCAACCTAAGGGA	eeekdddddiddddkke	11	1600
541567	52230	541582	Intrón 1	ATTCTGGTGATGCCCT	eeekdddddiddddkke	66	1601
541568	52588	541583	Intrón 1	GTGTTCACTGCCCATGA	eeekdddddiddddkke	67	1602
541569	53532	541584	Intrón 1	GGTAGAGCACACTGCC	eeekdddddiddddkke	47	1603
541570	54645	541585	Intrón 1	CCACTTTAATGCCACC	eeekdddddiddddkke	76	1604

Tabla 56

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y oEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541262	156891	156906	Intrón 2	TTGGTTTGTCATCCT	eeekddddd	88
541571	54886	54901	Intrón 1	GTCAATGCTGTTGGG	eeekddddd	91
541572	55900	55915	Intrón 1	CATCCCCTATCAGGGT	eeekddddd	53
541573	62266	62281	Intrón 1	CTCGAATCCCTTGAGC	eeekddddd	73
541574	62733	62748	Intrón 1	GATTCCTCCCTAAC	eeekddddd	27
541575	63173	63188	Intrón 1	ATCCATCCATGTGCTG	eeekddddd	92
541576	63751	63766	Intrón 1	GAGCATGCCTCAGTGG	eeekddddd	81
541577	63964	63979	Intrón 1	CAGAAGGACTGCCTCT	eeekddddd	50
541578	64213	64228	Intrón 1	ACAATGCTCAACAGCC	eeekddddd	75
541579	64576	64591	Intrón 1	GTTGGATCTGGCATGC	eeekddddd	80
541580	65027	65042	Intrón 1	CGGCTGAGAGCAAGGG	eeekddddd	88
541581	65363	65378	Intrón 1	GAGAGGTTTCAGCCTG	eeekddddd	62
541582	65600	65615	Intrón 1	ACTTAGTTCCTAGCCA	eeekddddd	91
541583	66087	66102	Intrón 1	GTGAACCCAGATGTGCT	eeekddddd	86
541584	66566	66581	Intrón 1	GGAGTGACAGCTAAGT	eeekddddd	98
541585	66978	66993	Intrón 1	AAGTGTTTCAGAGCCAC	eeekddddd	97
541586	67662	67677	Intrón 1	AACCTGCCAAGGTAC	eeekddddd	45
541587	67914	67929	Intrón 1	GATGGTGAGCACTACC	eeekddddd	78
541588	68278	68293	Intrón 1	GGCAGGATAGGACAGA	eeekddddd	11
541589	68727	68742	Intrón 1	GCAAAGTGATGAGCCT	eeekddddd	81
541590	69207	69222	Intrón 1	CTATCCACACCATTC	eeekddddd	93
541591	69605	69620	Intrón 1	GGATCATGGCCCCCTA	eeekddddd	70
541592	70130	70145	Intrón 1	GTGAATTTGCTGGGCC	eeekddddd	94
541593	70569	70584	Intrón 1	GTGATGGGCCCAAGGC	eeekddddd	67

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2									
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO		
541594	71056	71071	Intrón 1	TCCTCAGTCGGCTTGC	eeekddddd	69	1628		
541595	71314	71329	Intrón 1	CAGCCTTTGCCAGAT	eeekddddd	93	1629		
541596	71620	71635	Intrón 1	CCTCCTAGGATTACC	eeekddddd	42	1630		
541597	72226	72241	Intrón 1	ACGCCCAATCACTCA	eeekddddd	79	1631		
541598	72655	72670	Intrón 1	GCATGACCCATTATGT	eeekddddd	94	1632		
541599	73061	73076	Intrón 1	TCCCTCCAAGAGCTCA	eeekddddd	83	1633		
541600	73708	73723	Intrón 1	GATGCCTGTGGCTGAC	eeekddddd	84	1634		
541601	74107	74122	Intrón 1	GGCTAGCATGTTGCCT	eeekddddd	19	1635		
541602	74542	74557	Intrón 1	TAACCCACTAGGCTGG	eeekddddd	84	1636		
541603	74947	74962	Intrón 1	TGGCCCAAAACTAATC	eeekddddd	34	1637		
541604	75192	75207	Intrón 1	GGAGCAGTCTGGCACC	eeekddddd	85	1638		
541605	75699	75714	Intrón 1	TATTCTGTGGACAAG	eeekddddd	51	1639		
541606	75979	75994	Intrón 1	GTGCTAGTTCAGGCC	eeekddddd	86	1640		
541607	76410	76425	Intrón 1	TACTATCATGTAGCGC	eeekddddd	87	1641		
541608	76701	76716	Intrón 1	TGCCCTTGTAGTGAGA	eeekddddd	31	1642		
541609	76980	76995	Intrón 1	TCCCCAACCTACAAGC	eeekddddd	41	1643		
541610	77292	77307	Intrón 1	GCTCTAGGCATATGAA	eeekddddd	63	1644		
541611	77555	77570	Intrón 1	TACCTCCCTTGTAGGG	eeekddddd	27	1645		
541612	77854	77869	Intrón 1	GGTTCCCTTGCAGAGA	eeekddddd	62	1646		
541613	78311	78326	Intrón 1	GTGCCCTCTTCATGCC	eeekddddd	68	1647		
541614	79006	79021	Intrón 1	CCTGTGTGCAACTGGC	eeekddddd	85	1648		
541615	79490	79505	Intrón 1	CTGAGTCATTTGCCTG	eeekddddd	93	1649		
541616	79829	79844	Intrón 1	GGCCTTAGTAGGCCAG	eeekddddd	0	1650		
541617	80277	80292	Intrón 1	GTCCCTTGCAAGTCAACC	eeekddddd	77	1651		

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2							SEQ ID NO
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	
541618	80575	80590	Intrón 1	GCTGGGCCAAAGTCCAT	eeekdddddldldk	77	1652
541619	80895	80910	Intrón 1	TAGGGCACTTTTGTCC	eeekdddddldldk	31	1653
541620	81207	81222	Intrón 1	GCTGAGGTCCCTCTCT	eeekdddddldldk	34	1654
541621	81761	81776	Intrón 1	CTTTGGTCCCATTTGCC	eeekdddddldldk	83	1655
541622	82233	82248	Intrón 1	GGAACATGCCAAGGGC	eeekdddddldldk	91	1656
541623	82738	82753	Intrón 1	AGGTGGTCTCCCTTCA	eeekdddddldldk	74	1657
541624	83056	83071	Intrón 1	TCCCAAAGCTCCCCTC	eeekdddddldldk	53	1658
541625	83401	83416	Intrón 1	CCTGGCCTAGCAAGCT	eeekdddddldldk	47	1659
541626	84048	84063	Intrón 1	TCTTAGCCCTGGGCTA	eeekdddddldldk	12	1660
541627	84388	84403	Intrón 1	GACTTGACTGGGCTC	eeekdddddldldk	81	1661
541628	85261	85276	Intrón 1	GGCCTAGGATCTAGGA	eeekdddddldldk	0	1662
541629	85714	85729	Intrón 1	GTCAGGCTAGAGGGAC	eeekdddddldldk	41	1663
541630	86220	86235	Intrón 1	GGAAGTTCTCCAGCC	eeekdddddldldk	47	1664
541631	86640	86655	Intrón 1	CCTGACTGATGTACAC	eeekdddddldldk	35	1665
541632	86903	86918	Intrón 1	CTCTGGCCTAGCCTAT	eeekdddddldldk	54	1666
541633	87247	87262	Intrón 1	GGCTGCTGTCAGATGC	eeekdddddldldk	79	1667
541634	88293	88308	Intrón 1	TCTCAGGTGTAGGCAG	eeekdddddldldk	59	1668
541635	88605	88620	Intrón 1	GGTCACTGAGACTGGG	eeekdddddldldk	88	1669
541636	88952	88967	Intrón 1	ACCCACTAGCAGCTAG	eeekdddddldldk	61	1670
541637	89160	89175	Intrón 1	CGGATGAGGCAGTTAG	eeekdddddldldk	42	1671
541638	89855	89870	Intrón 1	TGGTAGGCCCTCTGGC	eeekdddddldldk	28	1672
541639	90240	90255	Intrón 1	GTCACAAGGTGGGTGC	eeekdddddldldk	28	1673
541640	90513	90528	Intrón 1	GTCTTGCCCTCACGGA	eeekdddddldldk	73	1674
541641	91073	91088	Intrón 1	GCAGTCTGTGGACTTA	eeekdddddldldk	93	1675

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541642	91647	91662	Intrón 1	TGCTCTCTGGTCACAC	eeekdddddiddddkkke	75	1676
541643	92069	92084	Intrón 1	TATCCCCCAGAGCCAT	eeekdddddiddddkkke	68	1677
541644	92356	92371	Intrón 1	AAGGTGAGAGGGGCACT	eeekdddddiddddkkke	75	1678
541645	92904	92919	Intrón 1	GTTTTAACCTCACCCCT	eeekdddddiddddkkke	0	1679
541646	93846	93861	Intrón 1	CCTTCCCACTGACCTTC	eeekdddddiddddkkke	56	1680
541647	94374	94389	Intrón 1	GACACTAGCCTAAGCC	eeekdddddiddddkkke	37	1681

Tabla 57

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541262	156891	156906	Intrón 2	TTGGTTTGTC AATCCT	eeekddddd	94
541648	94638	94653	Intrón 1	GGTTAGCCCTCAGCCT	eeekddddd	61
541649	94839	94854	Intrón 1	TATGAAGGTTGAGCCA	eeekddddd	69
541650	95509	95524	Intrón 1	CAACCAGCTCACCTGA	eeekddddd	37
541651	95829	95844	Intrón 1	GGGCTCCAAGGCTCTC	eeekddddd	75
541652	96158	96173	Intrón 1	AGCTGTATACATGCCAA	eeekddddd	93
541653	96488	96503	Intrón 1	GGCCCAAGAGGTTATAG	eeekddddd	30
541654	96991	97006	Intrón 1	GTCCCTTAGACCCCTCA	eeekddddd	70
541655	97539	97554	Intrón 1	GCCCTGGCTAGAGACA	eeekddddd	39
541656	98132	98147	Intrón 1	CATCCAGCAGCTGGAC	eeekddddd	35
541657	98833	98848	Intrón 1	GACTGAGGTCATCACA	eeekddddd	60
541658	99258	99273	Intrón 1	GGCCAGGCACATCATG	eeekddddd	45
541659	99843	99858	Intrón 1	GGAGCTCATTGAGCCA	eeekddddd	36
541660	100406	100421	Intrón 1	GTGCCCATTTGCTGTGT	eeekddddd	70
541661	100742	100757	Intrón 1	CCAAGTGTGGCTTCAG	eeekddddd	54
541662	101305	101320	Intrón 1	CCACCCCTTTATACGCA	eeekddddd	87
541663	101788	101803	Intrón 1	CAGTAACCCCAAGGGA	eeekddddd	12
541664	102649	102664	Intrón 1	CCCCACCTTATATGGG	eeekddddd	9
541665	103034	103049	Intrón 1	AGGCCCTTTTACATG	eeekddddd	9
541666	103316	103331	Intrón 1	TCAATAAGTCCCTAGG	eeekddddd	20
541667	104277	104292	Intrón 1	GGCATTGAGTGACTGC	eeekddddd	51
541668	104679	104694	Intrón 1	ATAATGCCCTTCTCAGC	eeekddddd	62
541669	106349	106364	Intrón 1	GTGAGGCATTTAGCCC	eeekddddd	35
541670	106632	106647	Intrón 1	GCTCTTGTGTTGGGTA	eeekddddd	89

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541671	107084	107099	Intrón 1	TGTGCAGGAGGCTCTCA	eeekddddd	60
541672	107949	107964	Intrón 1	TGGAGAGTCTTGCTCTC	eeekddddd	17
541673	108773	108788	Intrón 1	GTGACCCCAACCAAGAG	eeekddddd	34
541674	109336	109351	Intrón 1	GTTGTAGCTAGTGTTTC	eeekddddd	74
541675	109849	109864	Intrón 1	GCCTTAGTTTGTGCCA	eeekddddd	78
541676	110427	110442	Intrón 1	GCCCCAGCTGAGAAATT	eeekddddd	29
541677	110701	110716	Intrón 1	ACAACAATCCAGGGTG	eeekddddd	61
541678	110959	110974	Intrón 1	CTCCCCCTGGAAGTCAC	eeekddddd	59
541679	111307	111322	Intrón 1	GCCCTCATGGCTCAAG	eeekddddd	60
541680	112499	112514	Intrón 1	TCAGCAGATAGGGAGC	eeekddddd	61
541681	113896	113911	Intrón 1	GAATGCGGTGATCAGG	eeekddddd	29
541682	117477	117492	Intrón 1	CTGAGAGAAATTGGCCC	eeekddddd	5
541683	117740	117755	Intrón 1	AGGCACATTGTTACCA	eeekddddd	26
541684	118229	118244	Intrón 1	GGGAGGCACCTAGAGAA	eeekddddd	13
541685	119269	119284	Intrón 1	TACAGTAACACATCCC	eeekddddd	78
541686	119688	119703	Intrón 1	GAAGCTCAGCCTGATC	eeekddddd	45
541687	120376	120391	Intrón 1	CTTGCCCTGACAACCTA	eeekddddd	53
541688	120738	120753	Intrón 1	GCCTACCTGCTTTTTC	eeekddddd	10
541689	121242	121257	Intrón 1	TTTCCCAACCACTTAG	eeekddddd	7
541690	121615	121630	Intrón 1	TCTCCTATTTCAGTTA	eeekddddd	23
541691	121823	121838	Intrón 1	GGGTGATGGATGAACCT	eeekddddd	40
541692	122345	122360	Intrón 1	ACACTGCTGGTAGTGA	eeekddddd	0
541693	122588	122603	Intrón 1	ACCCAACTAGCCTGTC	eeekddddd	35
541694	123152	123167	Intrón 1	GAGACCTGCTGCCTGA	eeekddddd	80

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
541695	123671	123686	Intrón 1	ACATCTCTTGGGAGGT	eeekdddddiddk	1729
541696	124040	124055	Intrón 1	ACATAGTACCCCTCCA	eeekdddddiddk	1730
541697	124430	124445	Intrón 1	CTCTCAAGTACCTGCC	eeekdddddiddk	1731
541698	124824	124839	Intrón 1	TTTGTACCCCAACCCCC	eeekdddddiddk	1732
541699	125032	125047	Intrón 1	AGGCCACATAAATGC	eeekdddddiddk	1733
541700	125533	125548	Intrón 1	GAGCATCCCTACACT	eeekdddddiddk	1734
541701	126357	126372	Intrón 1	GCTGGGCCTTTAGCTG	eeekdddddiddk	1735
541702	126736	126751	Intrón 1	TTGGTCAATTGGGCAG	eeekdddddiddk	1736
541703	127179	127194	Intrón 1	GTCTCATGAGGCCTAT	eeekdddddiddk	1737
541704	127454	127469	Intrón 1	GGAGGTGGGATCCAC	eeekdddddiddk	1738
541705	128467	128482	Intrón 1	GCCCACTACCTAGCAC	eeekdddddiddk	1739
541706	129096	129111	Intrón 1	CCCAGCTGGCTGGTCG	eeekdddddiddk	1740
541707	129312	129327	Intrón 1	GCACCAGGTCTCCTGT	eeekdddddiddk	1741
541708	129516	129531	Intrón 1	GTCTAGAAAGCCTAGGG	eeekdddddiddk	1742
541709	129976	129991	Intrón 1	GCCGGGTGTTGGTGCA	eeekdddddiddk	1743
541710	130308	130323	Intrón 1	TTGGTGCCCTGTGTTGC	eeekdddddiddk	1744
541711	130767	130782	Intrón 1	TGCTTCTGATCCCTAC	eeekdddddiddk	1745
541712	131286	131301	Intrón 1	GTTCCCAGGAGGCTTA	eeekdddddiddk	1746
541713	131676	131691	Intrón 1	AGGCCCCCTAGAGTCTA	eeekdddddiddk	1747
541714	132292	132307	Intrón 1	TGGTGTGCCACAGACTT	eeekdddddiddk	1748
541715	132730	132745	Intrón 1	GATGGCTAACCCACTG	eeekdddddiddk	1749
541716	133101	133116	Intrón 1	CCCCAAAAGTTGCC	eeekdddddiddk	1750
541717	133522	133537	Intrón 1	TAGGGTGTCCAGATC	eeekdddddiddk	1751
541718	133724	133739	Intrón 1	GTACCATGAAGCTCTG	eeekdddddiddk	1752

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541719	134086	134101	Intrón 1	CTTGGACTTGGACCAT	eekdddddiddk	42	1753
541720	134441	134456	Intrón 1	GTGCATAGGGCCTGTC	eekdddddiddk	42	1754
541721	135015	135030	Intrón 1	CCTCACCTGAACACCC	eekdddddiddk	23	1755
541722	135859	135874	Intrón 1	ATGCCCTCCCCGCAACT	eekdddddiddk	27	1756
541723	136287	136302	Intrón 1	TTGTGCTTGGGTGTAC	eekdddddiddk	39	1757
541724	137000	137015	Intrón 1	AGGCTTCATGTGAGGT	eekdddddiddk	86	1758

Tabla 58

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y dEt dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2							SEQ ID NO
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	
541262	156891	156906	Intrón 2	TTGGTTTGCAATCCT	eeekdddddiddk	95	1370
541725	137372	137387	Intrón 1	TGTAAAAGGTCCCTCCC	eeekdddddiddk	53	1759
541726	137750	137765	Intrón 1	GACCTGTGCAGCAGGT	eeekdddddiddk	32	1760
541727	138783	138798	Intrón 1	TCCTCTTGGAGATCCA	eeekdddddiddk	44	1761
541728	139825	139840	Intrón 1	AGGTCATAGGACTGCT	eeekdddddiddk	73	1762
541729	140343	140358	Intrón 1	GAAAGGTCAGACTAGGG	eeekdddddiddk	53	1763
541730	140686	140701	Intrón 1	TCTGTAGACTGCCCAG	eeekdddddiddk	87	1764
541731	141116	141131	Intrón 1	GTCCTCTATTCCCCT	eeekdddddiddk	57	1765
541732	141591	141606	Intrón 1	AATTGCCATGCTCCCA	eeekdddddiddk	56	1766
541733	142113	142128	Intrón 1	GATGACCTTCCCTCCAA	eeekdddddiddk	15	1767
541734	142327	142342	Intrón 1	GTTTCCAGTAGCACCT	eeekdddddiddk	82	1768
541735	143118	143133	Intrón 1	GGCCTTGAGCTGATGG	eeekdddddiddk	11	1769
541736	143836	143851	Intrón 1	TATCCCTAA TCAGGCT	eeekdddddiddk	40	1770
541737	144094	144109	Intrón 1	GGTGTCACATCCCGG	eeekdddddiddk	58	1771
541738	144558	144573	Intrón 1	AGCTGGACAGGCCATA	eeekdddddiddk	27	1772
541740	145510	145525	Intrón 2	GGTAATCACCCAGAGA	eeekdddddiddk	90	1773
541741	145937	145952	Intrón 2	GCGCTAAGTCTGCTGT	eeekdddddiddk	92	1774
541742	146320	146335	Intrón 2	CCTCAAA TCTTGCCCA	eeekdddddiddk	96	1775
541743	147028	147043	Intrón 2	ATCCAGACCTGGCAGA	eeekdddddiddk	84	1776
541744	147262	147277	Intrón 2	ATCCCTGCTCAAGTGC	eeekdddddiddk	89	1777
541745	147671	147686	Intrón 2	CAGGCACTCCTTGGA	eeekdddddiddk	93	1778
541746	148139	148154	Intrón 2	AGCTGAGGTATCCCTC	eeekdddddiddk	94	1779
541747	148564	148579	Intrón 2	GGGCCAGCAAGTCTT	eeekdddddiddk	33	1780
541748	149069	149084	Intrón 2	GTTTGTGAGTGCGCA	eeekdddddiddk	98	1781

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
541749	149491	149506	Intrón 2	GTGACCTGCTGAACCTC	eeekdddddldldldldke	1782
541750	150236	150251	Intrón 2	GGCTGAACCTGTGCACC	eeekdddddldldldldke	1783
541751	150748	150763	Intrón 2	GGGTGGTCCCACCTCCT	eeekdddddldldldldke	1784
541752	151124	151139	Intrón 2	GAGGAATCCTGGGCCCC	eeekdddddldldldldke	1785
541753	151373	151388	Intrón 2	ATGACAAGCTAGGTGC	eeekdddddldldldldke	1786
541754	151644	151659	Intrón 2	TTGCCAGACAGGGCAC	eeekdddddldldldldke	1787
541755	152373	152388	Intrón 2	AGACCCCTCCCACCTAT	eeekdddddldldldldke	1788
541756	152617	152632	Intrón 2	GGTGTGGGTGACCCGG	eeekdddddldldldldke	1789
541757	153349	153364	Intrón 2	GGCCAAACGGTGCCCT	eeekdddddldldldldke	1790
541758	153918	153933	Intrón 2	TGGGTGAATAGCAACC	eeekdddddldldldldke	1791
541759	154171	154186	Intrón 2	GCCCCCAAGGAAGTGA	eeekdddddldldldldke	1792
541760	154813	154828	Intrón 2	CAGGCTTCATGTGTGG	eeekdddddldldldldke	1793
541761	155289	155304	Intrón 2	CTGTCAGTGTCTTGGT	eeekdddddldldldldke	1794
541762	156233	156248	Intrón 2	GAGTACCCTGGCAGGT	eeekdddddldldldldke	1795
541763	156847	156862	Intrón 2	TAGCTAGCACCTGGGT	eeekdddddldldldldke	1796
541764	157552	157567	Intrón 2	GGCAAACCTTTGAGCC	eeekdddddldldldldke	1797
541765	157927	157942	Intrón 2	GCTATCATTGGAGCAG	eeekdddddldldldldke	1798
541766	158542	158557	Intrón 2	CCTCTGAGTACTCCCT	eeekdddddldldldldke	1799
541767	159252	159267	Intrón 2	AGCTGAAGGCAACCAG	eeekdddddldldldldke	1800
541768	159539	159554	Intrón 2	GGGCAGTTTCCCATAG	eeekdddddldldldldke	1801
541769	159778	159793	Intrón 2	GGTCTACCTCTGACA	eeekdddddldldldldke	1802
541770	160352	160367	Intrón 2	GGCTGCCCTTAGGGTGG	eeekdddddldldldldke	1803
541771	160812	160827	Intrón 2	CGCACCTCCCCCCTACTA	eeekdddddldldldldke	1804
541772	161461	161476	Intrón 2	GCTTATTGGTCCATGG	eeekdddddldldldldke	1805

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
541773	161821	161836	Intrón 2	AACCGCAGAGCCCCCA	eeekddddd	1806
541774	162132	162147	Intrón 2	GGGCTTGTTCTGCCAA	eeekddddd	1807
541775	162639	162654	Intrón 2	GGGACCTGCGCTGACT	eeekddddd	1808
541776	163024	163039	Intrón 2	CTTTCACCTGGTGACT	eeekddddd	1809
541777	163542	163557	Intrón 2	AGCTTGAGGGAGGTATA	eeekddddd	1810
541778	164144	164159	Intrón 2	GCCTGCTCAATTGAGG	eeekddddd	1811
541779	164570	164585	Intrón 2	ATAGCAGCTGGCTGCC	eeekddddd	1812
541780	165419	165434	Intrón 2	AAAAGCTTGGCACCC	eeekddddd	1813
541781	165859	165874	Intrón 2	CCTGGCAAGAAAGGCC	eeekddddd	1814
541782	166435	166450	Intrón 2	TTAGCCCATCTATCCC	eeekddddd	1815
541783	166837	166852	Intrón 2	GTGGTCTCCCTGTGCC	eeekddddd	1816
541784	167107	167122	Intrón 2	AGCCCTCTCTGGCAAA	eeekddddd	1817
541785	168004	168019	Intrón 2	TTACTGTGGCCCGAGT	eeekddddd	1818
541786	169062	169077	Intrón 2	GTAGACTCCTAGGGTC	eeekddddd	1819
541787	169696	169711	Intrón 2	CCTCCAGTTAGTGTGC	eeekddddd	1820
541788	170081	170096	Intrón 2	GTGGGTGGCCCAACAGG	eeekddddd	1821
541789	170799	170814	Intrón 2	GGGATTCCCTGGTAGC	eeekddddd	1822
541790	171021	171036	Intrón 2	GTGAGACCGGCCCTTTG	eeekddddd	1823
541791	171530	171545	Intrón 2	ACTGGCACCCCACTTGG	eeekddddd	1824
541792	172447	172462	Intrón 2	ATTGGCCTAATGCCCC	eeekddddd	1825
541793	172733	172748	Intrón 2	AGGCTATACATTCCAG	eeekddddd	1826
541794	173045	173060	Intrón 2	GGTGGCAGCTAGGTGG	eeekddddd	1827
541795	173677	173692	Intrón 2	TCCACAGTTGGCACTG	eeekddddd	1828
541796	174128	174143	Intrón 2	TGGGCCCTTAGATTGTA	eeekddddd	1829

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 1 y 2 de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541797	174521	174536	Intrón 2	TGTCTTCC TGGTGGCC	eekddddd d d d d d d d kke	97	1830
541798	174870	174885	Intrón 2	CCCGCCTC TCCAGCAA	eekddddd d d d d d d d kke	89	1831
541799	175275	175290	Intrón 2	GCAGCAGCCAA TAAGT	eekddddd d d d d d d d kke	76	1832
541800	175691	175706	Intrón 2	TTGTATCC TGGCCCCCT	eekddddd d d d d d d d kke	80	1833
541801	176038	176053	Intrón 2	GCCTCATG GGGCCCTTAC	eekddddd d d d d d d d kke	66	1834

Tabla 59

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541262	156891	155906	Intrón 2	TTGGTTTGTCATCCT	eeekddddd	97
541802	176619	176634	Intrón 2	GGATGCCAGTCTTGGC	eeekddddd	48
541803	176835	176850	Intrón 2	CTGCTCTCAGTACCTC	eeekddddd	87
541804	177300	177315	Intrón 2	ACCCAAGAAAGTCACCT	eeekddddd	93
541805	177551	177566	Intrón 2	GCCTCAAGCCCTACCC	eeekddddd	73
541806	178066	178081	Intrón 2	AGCTCCAGCCTATAGA	eeekddddd	81
541807	178361	178376	Intrón 2	GGTCCACATGGCCCTA	eeekddddd	90
541808	178895	178910	Intrón 2	CAGGCCCAGGATTGTC	eeekddddd	81
541809	179444	179459	Intrón 2	GGGCTGCTTTGCAGC	eeekddddd	81
541810	179863	179878	Intrón 2	ACTCCTCTCTTTAGGC	eeekddddd	87
541811	180524	180539	Intrón 2	CTGGGTAACAGTCCTC	eeekddddd	98
541812	181528	181543	Intrón 2	ACTGTATGGTTTCCAC	eeekddddd	83
541813	182103	182118	Intrón 2	GCCAAAGATAGCTCTT	eeekddddd	94
541814	182978	182993	Intrón 2	GGCATTGGAAAGTTGGT	eeekddddd	87
541815	183193	183208	Intrón 2	CCCTTCCTGACCTTAC	eeekddddd	55
541816	183658	183673	Intrón 2	TTACCCCTCTATTACCC	eeekddddd	65
541818	184501	184516	Intrón 2	GGCACCCCCAGGCCCGGG	eeekddddd	25
541819	185080	185095	Intrón 2	CAGCAGCTAGTTCCCC	eeekddddd	96
541820	185327	185342	Intrón 2	GTGGGCACTAGTGTGT	eeekddddd	75
541821	185682	185697	Intrón 2	TGCCCTTGTCAGGGCA	eeekddddd	20
541822	186025	186040	Intrón 2	GCAGATAGGCTCAGCA	eeekddddd	98
541823	186570	186585	Intrón 2	CCCTAGCCCTTAGCAC	eeekddddd	44
541824	186841	186856	Intrón 2	ACTGGAATGGCCCTCT	eeekddddd	86
541825	187176	187191	Intrón 2	TTTGCTCATGCTCACA	eeekddddd	96

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por garmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541826	187629	187644	Intrón 2	GCCTTTGTGTGTCAC	eeekddddd	99
541827	187857	187872	Intrón 2	TATGTGTAGCATGTC	eeekddddd	96
541828	188442	188457	Intrón 2	CCCCAGGAAGTTGGCC	eeekddddd	68
541829	189086	189101	Intrón 2	TAGCTGTCAAGGCCCT	eeekddddd	90
541830	189534	189549	Intrón 2	CCTAGTCAGCCACTAG	eeekddddd	20
541831	189889	189904	Intrón 2	AGACTCCCCCATCAGCC	eeekddddd	74
541832	190172	190187	Intrón 2	GTGAAGGGCCCTTCATC	eeekddddd	68
541833	190961	190976	Intrón 2	GGTTGAGAGTCCAATG	eeekddddd	95
541834	191404	191419	Intrón 2	CAGCTAATTCCCTCAT	eeekddddd	79
541835	191614	191629	Intrón 2	TTGTGTCTCAACCCAC	eeekddddd	95
541836	191999	192014	Intrón 2	GGCTATGCTGCATGCT	eeekddddd	91
541837	192860	192875	Intrón 2	CCCCATACCCAGTGGA	eeekddddd	71
541838	193460	193475	Intrón 2	GGTGGTTTCTCCTCCT	eeekddddd	95
541839	194144	194159	Intrón 2	GAGCCTGCCCAACTTT	eeekddddd	90
541840	194425	194440	Intrón 2	TGATGCCCAAGAGTGA	eeekddddd	85
541841	194953	194968	Intrón 2	TTCCCTCTGCGAACAT	eeekddddd	96
541842	195428	195443	Intrón 2	GTTCCATCTCAATCCA	eeekddddd	94
541843	196858	196873	Intrón 2	ACGGCCACTCCACTGG	eeekddddd	44
541844	197326	197341	Intrón 2	TGGAAGTGGTTCCAGA	eeekddddd	90
541845	197946	197961	Intrón 2	TTGCCCCAGACCAACA	eeekddddd	47
541846	198366	198381	Intrón 2	GAGGTTGTGGAGGTGC	eeekddddd	26
541847	198715	198730	Intrón 2	GAGTTGCTGTGTGTA	eeekddddd	83
541848	198939	198954	Intrón 2	CATGTCAGAGGTGTCC	eeekddddd	93
541849	199506	199521	Intrón 2	AGGTAAGGATCATGGC	eeekddddd	87

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541850	199816	199831	Intrón 2	GTTCAGTTGCATCACG	eeekdddddiddk	90
541851	200249	200264	Intrón 2	GCCCAGCTAGCCACCC	eeekdddddiddk	68
541852	201258	201273	Intrón 2	CCTTAGCAGCCAGGCC	eeekdddddiddk	86
541853	202079	202094	Intrón 2	GCACTTAGGGTTTTC	eeekdddddiddk	94
541854	202382	202397	Intrón 2	GTTGAACTTTCCCTAC	eeekdddddiddk	53
541855	202702	202717	Intrón 2	TGACTCCTTGAGACAG	eeekdddddiddk	83
541856	203098	203113	Intrón 2	TGCGCTGGCTTAGCAA	eeekdddddiddk	59
541857	203464	203479	Intrón 2	GGCCTAACATCAGCAG	eeekdddddiddk	88
541858	204212	204227	Intrón 2	ACTCCTCCCAGTTAGC	eeekdddddiddk	70
541859	205630	205645	Intrón 2	ACCAGTGGCCCAATGTC	eeekdddddiddk	92
541861	206422	206437	Intrón 2	GCCTAGACACAGTAGG	eeekdddddiddk	70
541862	206749	206764	Intrón 2	TATTCTCCCCCTAGGG	eeekdddddiddk	42
541863	207517	207532	Intrón 2	GACGGCCTTGGGCACA	eeekdddddiddk	96
	210196	210211				
541865	208659	208674	Intrón 3	GCAGGCTGTATTAGCA	eeekdddddiddk	15
541867	209999	210014	Intrón 3	ACCCCTATCCTGCAC	eeekdddddiddk	58
541868	210281	210296	Intrón 3	TCCTCCA TACCTAGAG	eeekdddddiddk	61
	211033	211048				
541869	210502	210517	Intrón 3	GATAGTGCCCACTGT	eeekdddddiddk	80
541870	210920	210935	Intrón 3	GTCAGTTCTGGCTAGG	eeekdddddiddk	97
541871	211269	211284	Intrón 3	GCCTGAACCTTACAAGC	eeekdddddiddk	68
541872	211836	211851	Intrón 3	ACCCTGGGCTGACCTT	eeekdddddiddk	92
541873	212606	212621	Intrón 3	GGACCTGGACAAAGCAA	eeekdddddiddk	97
541874	213099	213114	Intrón 3	CTCCTTGCGAGAGAGG	eeekdddddiddk	7

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541875	213425	213440	Intrón 3	AGAGTTGACATGGGCA	eeekdddddoddokke	96	1904
541876	213846	213861	Intrón 3	CACTAGGTCCCTGACC	eeekdddddoddokke	37	1905
541877	214483	214498	Intrón 3	CACTCTCTTGGGCTGT	eeekdddddoddokke	94	1906
541878	214884	214899	Intrón 3	AGGGACCTGCATTCCA	eeekdddddoddokke	72	1907

Tabla 60

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición
541262	156891	156906	Intrón 2	TTGGTTTGTCATCCT	eeekddddd	91
541879	215493	215508	Intrón 3	TTCACCACCCATTGGG	eeekddddd	63
541880	216192	216207	Intrón 3	ATCTGGTCTGAGGGCC	eeekddddd	92
541881	216458	216473	Intrón 3	GACATGCAATTGACCC	eeekddddd	98
541882	217580	217595	Intrón 3	GTGTGCAGCAGACTGT	eeekddddd	92
541883	218233	218248	Intrón 3	GACAGTCCAGCTGCAA	eeekddddd	84
541884	218526	218541	Intrón 3	CCTGCGGCAGTGAAGA	eeekddddd	85
541885	218734	218749	Intrón 3	CTCTGAGGATAACCCCT	eeekddddd	76
541886	219342	219357	Intrón 3	GTTCCCAAGTCCCA	eeekddddd	68
541887	219618	219633	Intrón 3	TAGGGTCAGTGTCCTCA	eeekddddd	79
541888	220039	220054	Intrón 3	GGCGAGCCTCTCAGCC	eeekddddd	52
541889	220393	220408	Intrón 3	GACTCATCCAGGCAGT	eeekddddd	91
541890	220665	220680	Intrón 3	TCCCTCCCTTAGGCAC	eeekddddd	71
541891	221044	221059	Intrón 3	GAGGAGCCAGGCATAT	eeekddddd	80
541892	221562	221577	Intrón 3	CACCAACGAAGTCCCC	eeekddddd	89
541893	221947	221962	Intrón 3	GCTGGCAGTCACCAAA	eeekddddd	90
541894	222569	222584	Intrón 3	GCCCACACCATGAGC	eeekddddd	70
541895	222983	222998	Intrón 3	AGTGAGATGCCCTGGT	eeekddddd	92
541896	223436	223451	Intrón 3	CACTGGCAGTTAGACC	eeekddddd	88
541897	224107	224122	Intrón 3	ACTCTGGCCACTAGTA	eeekddddd	80
541898	224731	224746	Intrón 3	GGTAGGGTGCCACAT	eeekddddd	78
541899	225133	225148	Intrón 3	GAGCCATGTCTAGGCA	eeekddddd	18
541900	225465	225480	Intrón 3	CAGACTGAAACCCACC	eeekddddd	86
541901	225671	225686	Intrón 3	TATGTCCAGCCACCA	eeekddddd	76

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
541902	226110	226125	Intrón 3	TACCTCCTCTGTGGT	eeekddddd	1931
541903	227025	227040	Intrón 3	ACACCTCAGTCATGAT	eeekddddd	1932
541904	227236	227251	Intrón 3	AACAGGCTTCAAGAGG	eeekddddd	1933
541905	227485	227500	Intrón 3	GTAATACTGGCCATGT	eeekddddd	1934
541906	227914	227929	Intrón 3	CTGCAGGCGGTTGCTA	eeekddddd	1935
541907	228718	228733	Intrón 3	GTCTGTTGCCAAGAGC	eeekddddd	1936
541908	229174	229189	Intrón 3	CCCTGGGTCACCTAAG	eeekddddd	1937
541909	229423	229438	Intrón 3	CCTGTCTTGTCTTGCA	eeekddddd	1938
541910	230042	230057	Intrón 3	GCCAGCTTATCCTAA	eeekddddd	1939
541911	230313	230328	Intrón 3	AGTAGAGCCTTTGCCT	eeekddddd	1940
541912	230580	230595	Intrón 3	CTGCTCTTGGCCCAT	eeekddddd	1941
541913	231330	231345	Intrón 3	GGCCCAATCTTGAGT	eeekddddd	1942
541914	231817	231832	Intrón 3	GCTTGTTACAGCACTA	eeekddddd	1943
541915	232088	232103	Intrón 3	ACTTTGGCCCAAGAGAT	eeekddddd	1944
541916	232884	232899	Intrón 3	GCAGTCAGGTCAGCTG	eeekddddd	1945
541917	233210	233225	Intrón 3	GCCTGTCTCTACTACC	eeekddddd	1946
541918	233657	233672	Intrón 3	GGCTCTGCTATTGGCC	eeekddddd	1947
541919	233998	234013	Intrón 3	CTTATAGAGCCTTGCC	eeekddddd	1948
541920	234296	234311	Intrón 3	GGAAGGGCCCAAAATAT	eeekddddd	1949
541921	234903	234918	Intrón 3	GATCTACTCTACTGC	eeekddddd	1950
541922	235313	235328	Intrón 3	GTCAGCCTGTGCTGA	eeekddddd	1951
541923	235770	235785	Intrón 3	AGCTTCCTCCTTACAC	eeekddddd	1952
541924	236198	236213	Intrón 3	CTGCTAAGCCCCCTACC	eeekddddd	1953
541925	236684	236699	Intrón 3	AGAGGTCAGGTGCATA	eeekddddd	1954

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							SEQ ID NO
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	
541926	237055	237070	Intrón 3	TTCAGCCTGGTTGGGA	eekdddddiddkde	71	1955
541927	237585	237600	Intrón 3	GATTGATTGAGCTCCT	eekdddddiddkde	86	1956
541928	237949	237964	Intrón 3	ATGGACTCCCTAGGCT	eekdddddiddkde	61	1957
541929	238542	238557	Intrón 3	TACTCAAGGGCCCCCTC	eekdddddiddkde	67	1958
541930	245319	245334	Intrón 3	GGCATATGTAGCTTGC	eekdddddiddkde	91	1959
541931	245765	245780	Intrón 3	GAGCTTAGATCTGTGC	eekdddddiddkde	73	1960
541932	246251	246266	Intrón 3	ATGCTCACGGCTGTGT	eekdddddiddkde	81	1961
541933	246500	246515	Intrón 3	ATTGAAAGGCCCATCA	eekdddddiddkde	45	1962
541934	246936	246951	Intrón 3	CAACCCAGTTTGCCGG	eekdddddiddkde	71	1963
541935	247225	247240	Intrón 3	CAGCTATTCCTGTTT	eekdddddiddkde	53	1964
541936	247644	247659	Intrón 3	GCTGTGTACACATTCC	eekdddddiddkde	98	1965
541937	248223	248238	Intrón 3	GTCCAAGGATCACAGC	eekdddddiddkde	86	1966
541938	248695	248710	Intrón 3	GCTACCACTAGAGCCT	eekdddddiddkde	81	1967
541939	249494	249509	Intrón 3	GTTCAGGGCTTATGT	eekdddddiddkde	63	1968
541940	250693	250708	Intrón 3	TCCCACACCTATTGAA	eekdddddiddkde	51	1969
541941	251622	251637	Intrón 3	ACTGACTAGAGAGTCC	eekdddddiddkde	81	1970
541942	251950	251965	Intrón 3	TCCAAGGCTGATGTCC	eekdddddiddkde	85	1971
541943	252665	252680	Intrón 3	TCCCATGGTGGACATG	eekdddddiddkde	39	1972
541944	253140	253155	Intrón 3	AGTAGCTGGCAGAAAG	eekdddddiddkde	85	1973
541945	253594	253609	Intrón 3	CTGGGAGTGACTACTA	eekdddddiddkde	77	1974
541946	254036	254051	Intrón 3	TGGTATAGCTACTGGG	eekdddddiddkde	84	1975
541947	254905	254920	Intrón 3	CTGTGGTTTGGCAGGT	eekdddddiddkde	90	1976
541948	255407	255422	Intrón 3	GTTCTACCTGAACATA	eekdddddiddkde	65	1977
541949	255618	255633	Intrón 3	ATAGGCTACTGGCAGG	eekdddddiddkde	89	1978

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por desoxi, MOE and cEt gapmers targeting intrones 2 and 3 of SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541950	255992	256007	Intrón 3	CCCAGCTAGCTGGAGT	eeekdddddiddddk	50	1979
541951	256428	256443	Intrón 3	GGCTGGCTCTCAAAGG	eeekdddddiddddk	61	1980
541952	256689	256704	Intrón 3	TGGTGATACTGTGGCA	eeekdddddiddddk	94	1981
541953	257317	257332	Intrón 3	GCTGATTTTGTGGCCA	eeekdddddiddddk	92	1982
541954	257826	257841	Intrón 3	GCTAATCTTGCCCTCGA	eeekdddddiddddk	52	1983
541955	258407	258422	Intrón 3	CACTGGTGGCTTTCAA	eeekdddddiddddk	31	1984

Tabla 61

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541262	n/a	Intrón 2	TTGGTTTGTCAAATCCT	eeekddddd	93	156891	1370
541956	n/a	Intrón 3	GTCCCCTTCTTAAGCA	eeekddddd	56	258980	1985
541957	n/a	Intrón 3	GCCAGGCCCAACTGTGG	eeekddddd	53	259290	1986
541958	n/a	Intrón 3	GGCCCGTTATGGTGA	eeekddddd	72	259500	1987
541959	n/a	Intrón 3	CCTAAAGTCCAACATCC	eeekddddd	76	261641	1988
541960	n/a	Intrón 3	CCCTATCCAGCCTTCA	eeekddddd	77	262021	1989
541961	n/a	Intrón 3	AAGCATGGCCTCTGGC	eeekddddd	23	262453	1990
541962	n/a	Intrón 3	TACCCCTGCACCCTCCT	eeekddddd	71	262764	1991
541963	n/a	Intrón 3	TCCTTAGTAGAATGCC	eeekddddd	82	263342	1992
541964	n/a	Intrón 3	TTAGCCCTGGGAGCAC	eeekddddd	78	263913	1993
541965	n/a	Intrón 3	GCTGGGTCAGGTAGCG	eeekddddd	71	266503	1994
541966	n/a	Intrón 3	GGGAGGCTCTCAATCT	eeekddddd	75	266861	1995
541967	n/a	Intrón 3	GTAAGTGCAGAAATGCC	eeekddddd	87	267116	1996
541968	n/a	Intrón 3	TGCCGAGGCAGGCACC	eeekddddd	33	267380	1997
541969	n/a	Intrón 3	TCCGTGTCTAGGAGGT	eeekddddd	84	267865	1998
541970	n/a	Intrón 4	GTCTCCCTGCATTGGA	eeekddddd	31	268366	1999
541971	n/a	Intrón 4	CCATATCACTCTCCTC	eeekddddd	79	268786	2000
541972	n/a	Intrón 4	CGAACACCTTGAGCCA	eeekddddd	90	269252	2001
541973	n/a	Intrón 4	GGCCCAAGCTTAAGAGG	eeekddddd	59	270038	2002
541974	n/a	Intrón 4	CTGATACTCCTAAATCC	eeekddddd	70	270501	2003
541975	n/a	Intrón 4	GCCTGTAGGGCTGTGC	eeekddddd	82	270817	2004
541976	n/a	Intrón 4	TGCCCTTTCTCCCTAC	eeekddddd	87	271216	2005
541977	n/a	Intrón 4	AGTGCATGTCAGTACC	eeekddddd	75	271812	2006
541978	n/a	Intrón 4	TGCTCCTCAGCTGTTG	eeekddddd	44	272631	2007

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							SEQ ID NO	
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO	
541979	n/a	Intrón 4	GTTTGGGACCATCCCT	eekdddddskk	41	272834	2008	
541980	n/a	Intrón 4	AGTGCTCTCTAGGGTC	eekdddddskk	87	273257	2009	
541981	n/a	Intrón 4	TACAGAGAATCACCCC	eekdddddskk	82	273651	2010	
541982	n/a	Intrón 4	GTCCAAGTAAGGTGCT	eekdddddskk	57	273947	2011	
541983	n/a	Intrón 5	GACCTTGCAGGGCTTCC	eekdddddskk	87	274244	2012	
541984	n/a	Intrón 5	GGGCAAAGGATCCTCT	eekdddddskk	71	274758	2013	
541985	n/a	Intrón 5	CCCATTCGTATCCC	eekdddddskk	92	275198	2014	
541986	n/a	Intrón 5	GCTGACTAGGAGGGCT	eekdddddskk	62	275732	2015	
541987	n/a	Intrón 5	CCTGTGAGGTAGTACC	eekdddddskk	83	276309	2016	
541988	n/a	Intrón 5	GTCCCCCTCCAGTCTA	eekdddddskk	50	276932	2017	
541989	n/a	Intrón 5	GAGGACTCAATTCCTC	eekdddddskk	0	277149	2018	
541990	n/a	Intrón 5	GACAAAGGTCTTTTGG	eekdddddskk	43	277391	2019	
541991	n/a	Intrón 5	GCTCTTGTTGTCACCC	eekdddddskk	90	277730	2020	
541992	n/a	Intrón 5	TCACCGCCTGCACCCAC	eekdddddskk	75	278342	2021	
541993	n/a	Intrón 5	GGTTGCACTGTGCAAT	eekdddddskk	26	278917	2022	
541994	n/a	Intrón 6	TTCCACAGGCCTCCAT	eekdddddskk	64	279303	2023	
541995	n/a	Intrón 6	GCTGAGTTCCATATGC	eekdddddskk	72	279679	2024	
541996	n/a	Intrón 6	GAACCGCCACCTCAGG	eekdddddskk	38	280157	2025	
541997	n/a	Intrón 6	GCTCACGGTTGGAGAC	eekdddddskk	42	280799	2026	
541998	n/a	Intrón 6	TGGGCTCCCATGTTCA	eekdddddskk	45	281595	2027	
541999	n/a	Intrón 6	TCACTCTACCAACCTC	eekdddddskk	33	282572	2028	
542000	n/a	Intrón 6	TCCTTGCTTACAGATG	eekdddddskk	33	283079	2029	
542001	n/a	Intrón 6	TGATGCTAGCATTACC	eekdddddskk	37	283653	2030	
542002	n/a	Intrón 6	TGGGTAACCTGGCTAGT	eekdddddskk	47	285711	2031	

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
542003	n/a	Intrón 6	AACCATTCCTCACCAA	eeekddddd	53	287181	2032
542004	n/a	Intrón 6	GCCCTGAACAGTTGAT	eeekddddd	37	287895	2033
542005	n/a	Intrón 6	GGCTCCTATCATACCT	eeekddddd	38	288943	2034
542006	n/a	Intrón 6	TAGGTCTCACAAACCCCT	eeekddddd	10	289638	2035
542007	n/a	Intrón 6	GTGCATTAGTCTTCCA	eeekddddd	74	290035	2036
542008	n/a	Intrón 7	CAAAAGCCAGGTTAGC	eeekddddd	13	290503	2037
542009	n/a	Intrón 7	CTGCTGTTGACTACCT	eeekddddd	50	290924	2038
542010	n/a	Intrón 7	GTACCTGCCAGCTACT	eeekddddd	35	291807	2039
542011	n/a	Unión exón 8-intrón 8	CCTACCTTTGCTGTTT	eeekddddd	12	292611	2040
542012	n/a	Intrón 8	AGTACCACGCCTAAGC	eeekddddd	47	292860	2041
542013	n/a	Intrón 8	AGGCAACCTGGGAGTG	eeekddddd	52	293377	2042
542014	n/a	Intrón 8	TGGCCTTCACAAATGGC	eeekddddd	33	294052	2043
542015	n/a	Intrón 8	GGTGAAGTGGGTTGGA	eeekddddd	27	294536	2044
542016	n/a	Intrón 8	GCTGGTTGCTCTGCTGC	eeekddddd	60	294931	2045
542017	n/a	Intrón 8	AGTTTGTGACCCCTGC	eeekddddd	81	295475	2046
542018	n/a	Intrón 8	CCACTCAGTGTGAATG	eeekddddd	85	295955	2047
542019	n/a	Intrón 8	CTGGCCTCAGGGCAAT	eeekddddd	51	296186	2048
542020	n/a	Intrón 8	GTAGACTTGGGTAGGT	eeekddddd	53	296680	2049
542022	n/a	3'UTR	TGGTGCTAAGCTCTCC	eeekddddd	67	301009	2050
542023	n/a	3'UTR	CATGCTCAAGCTGGAA	eeekddddd	47	301280	2051
542024	206	Exón 2	AAGGTCAACAGCAGCT	eeekddddd	93	144990	2052
542025	207	Exón 2	CAAGGTCAACAGCAGC	eeekddddd	85	144991	2053
542026	208	Exón 2	CCAAGGTCAACAGCAG	eeekddddd	82	144992	2054
542027	209	Exón 2	GCCAAGGTCAACAGCA	eeekddddd	84	144993	2055

Tabla 62

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541262	n/a	Intrón 2	TTGGTTTGTCAATCCT	eekdddddddddkke	86	156891	1370
542034	870	Exón 7	TCTCACACGCACTTCA	eekdddddddddkke	49	290368	2056
542035	871	Exón 7	ATCTCACACGCACTTC	eekdddddddddkke	39	290369	2057
542036	872	Exón 7	GATCTCACACGCACTT	eekdddddddddkke	50	290370	2058
542049	n/a	Intrón 1	CTTTCATGAATCAAGC	eekdddddddddkke	85	17928	2059
542050	n/a	Intrón 1	TCTTTCATGAATCAAG	eekdddddddddkke	54	17929	2060
542051	n/a	Intrón 1	GTCTTTCATGAATCAA	eekdddddddddkke	96	17930	2061
542052	n/a	Intrón 1	GGTCTTTCATGAATCA	eekdddddddddkke	98	17931	2062
542053	n/a	Intrón 1	ATGGTCTTTCATGAAT	eekdddddddddkke	94	17933	2063
542054	n/a	Intrón 1	GATGGTCTTTCATGAA	eekdddddddddkke	73	17934	2064
542055	n/a	Intrón 1	TGATGGTCTTTCATGA	eekdddddddddkke	83	17935	2065
542056	n/a	Intrón 1	TATATCAATATTCTCC	eekdddddddddkke	75	21821	2066
542057	n/a	Intrón 1	TTATATCAATATTCTC	eekdddddddddkke	23	21822	2067
542058	n/a	Intrón 1	GTTATATCAATATTCT	eekdddddddddkke	87	21823	2068
542059	n/a	Intrón 1	TTTCTTTAGCAATAGT	eekdddddddddkke	85	22519	2069
542060	n/a	Intrón 1	CTTCTTTAGCAATAG	eekdddddddddkke	81	22520	2070
542061	n/a	Intrón 1	GCTTCTTTAGCAATA	eekdddddddddkke	68	22521	2071
542062	n/a	Intrón 1	CTCCATTAGGGTTCTG	eekdddddddddkke	91	50948	2072
542063	n/a	Intrón 1	TCTCCATTAGGGTTCT	eekdddddddddkke	88	50949	2073
542064	n/a	Intrón 1	TTCTCCATTAGGGTTC	eekdddddddddkke	85	50950	2074
542065	n/a	Intrón 1	GTTCTCCATTAGGGTT	eekdddddddddkke	84	50951	2075
542066	n/a	Intrón 1	AGGTTGGCAGACAGAC	eekdddddddddkke	92	53467	2076
542067	n/a	Intrón 1	CAGGTTGGCAGACAGA	eekdddddddddkke	93	53468	2077
542068	n/a	Intrón 1	GCAGGTTGGCAGACAG	eekdddddddddkke	91	53469	2078
542069	n/a	Intrón 1	CTTCTTGAGCTGGC	eekdddddddddkke	95	64885	2079
542070	n/a	Intrón 1	TCTTCTTGAGCTGG	eekdddddddddkke	89	64886	2080
542071	n/a	Intrón 1	GTCTTCTTGAGCTG	eekdddddddddkke	96	64887	2081
542072	n/a	Intrón 1	AGTCTTCTTGAGCT	eekdddddddddkke	81	64888	2082
542073	n/a	Intrón 1	TCTTCCACTCACATCC	eekdddddddddkke	89	65991	2083
542074	n/a	Intrón 1	CTTCTCCACTCACATC	eekdddddddddkke	79	65992	2084
542075	n/a	Intrón 1	TCTTCTCCACTCACAT	eekdddddddddkke	86	65993	2085
542076	n/a	Intrón 1	GTCTTCTCCACTCACA	eekdddddddddkke	92	65994	2086
542077	n/a	Intrón 1	ATAGATTTTGACTTCC	eekdddddddddkke	86	72108	2087
542078	n/a	Intrón 1	CATAGATTTTGACTTC	eekdddddddddkke	42	72109	2088

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
542079	n/a	Intrón 1	GCATAGATTTTGA	eekdddddddkke	66	72110	2089
542080	n/a	Intrón 1	AAATGTCAACAGTGCA	eekdddddddkke	97	80639	2090
542081	n/a	Intrón 1	CATGACTATGTTCTGG	eekdddddddkke	68	125595	2091
542082	n/a	Intrón 1	ACATGACTATGTTCTG	eekdddddddkke	66	125596	2092
542083	n/a	Intrón 1	CACATGACTATGTTCT	eekdddddddkke	74	125597	2093
542084	n/a	Intrón 2	GAATTCTGAGCTCTGG	eekdddddddkke	91	145430	2094
542085	n/a	Intrón 2	TGAATTCTGAGCTCTG	eekdddddddkke	94	145431	2095
542086	n/a	Intrón 2	CTGAATTCTGAGCTCT	eekdddddddkke	94	145432	2096
542087	n/a	Intrón 2	CCTGAATTCTGAGCTC	eekdddddddkke	93	145433	2097
542088	n/a	Intrón 2	GCCTGAATTCTGAGCT	eekdddddddkke	87	145434	2098
542089	n/a	Intrón 2	AGCCTGAATTCTGAGC	eekdddddddkke	84	145435	2099
542090	n/a	Intrón 2	ATATTGTAATTCTTGG	eekdddddddkke	47	148060	2100
542091	n/a	Intrón 2	GATATTGTAATTCTTG	eekdddddddkke	61	148061	2101
542092	n/a	Intrón 2	TGATATTGTAATTCTT	eekdddddddkke	0	148062	2102
542093	n/a	Intrón 2	CTGATATTGTAATTCT	eekdddddddkke	58	148063	2103
542094	n/a	Intrón 2	CCTGATATTGTAATTC	eekdddddddkke	95	148064	2104
542095	n/a	Intrón 2	GCCTGATATTGTAATT	eekdddddddkke	85	148065	2105
542096	n/a	Intrón 2	TGCCTGATATTGTAAT	eekdddddddkke	86	148066	2106
542097	n/a	Intrón 2	ATTATGTGCTTTGCC	eekdddddddkke	86	148907	2107
542098	n/a	Intrón 2	AATTATGTGCTTTGCC	eekdddddddkke	75	148908	2108
542099	n/a	Intrón 2	CAATTATGTGCTTTGC	eekdddddddkke	88	148909	2109
542100	n/a	Intrón 2	TCAATTATGTGCTTTG	eekdddddddkke	78	148910	2110
542101	n/a	Intrón 2	GTCAATTATGTGCTTT	eekdddddddkke	97	148911	2111
542102	n/a	Intrón 2	GCCATCACCAAACACC	eekdddddddkke	97	150973	2112
542103	n/a	Intrón 2	TGCCATCACCAAACAC	eekdddddddkke	90	150974	2113
542104	n/a	Intrón 2	TTGCCATCACCAAACA	eekdddddddkke	89	150975	2114
542105	n/a	Intrón 2	TGGTGA	eekdddddddkke	98	151388	2115
542106	n/a	Intrón 2	CTGGTGA	eekdddddddkke	96	151389	2116
542107	n/a	Intrón 2	GCTGGTGA	eekdddddddkke	98	151390	2117
542108	n/a	Intrón 2	TGCTGGTGA	eekdddddddkke	97	151391	2118
542109	n/a	Intrón 2	CTGCTGGTGA	eekdddddddkke	93	151392	2119

Tabla 63

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y dEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
541262	156891	156906	Intrón 2	TTGGTTTGTCATCCT	eeekdddddiddk	95	1370
542110	153002	153017	Intrón 2	AGTAGTCAATATT	eeekdddddiddk	74	2120
542111	153003	153018	Intrón 2	CAGTAGTCAATATT	eeekdddddiddk	55	2121
542112	153004	153019	Intrón 2	CCAGTAGTCAATATT	eeekdddddiddk	97	2122
542113	153922	153937	Intrón 2	CCTTTGGGTGAATAGC	eeekdddddiddk	90	2123
542114	153923	153938	Intrón 2	ACCTTTGGGTGAATAG	eeekdddddiddk	71	2124
542115	153924	153939	Intrón 2	CACCTTTGGGTGAATA	eeekdddddiddk	78	2125
542116	155595	155610	Intrón 2	CAACTTGAGGACAATA	eeekdddddiddk	89	2126
542118	155597	155612	Intrón 2	CTCAACTTGAGGACAA	eeekdddddiddk	98	2127
542119	156395	156410	Intrón 2	CAGGAAGAAAGGAACC	eeekdddddiddk	95	2128
542120	156396	156411	Intrón 2	CCAGGAAGAAAGGAAC	eeekdddddiddk	83	2129
542121	156397	156412	Intrón 2	ACCAGGAAGAAAGGAA	eeekdddddiddk	90	2130
542122	156595	156610	Intrón 2	TGCAGTCATGTACACA	eeekdddddiddk	97	2131
542123	156596	156611	Intrón 2	CTGCAGTCATGTACAC	eeekdddddiddk	90	2132
542124	156597	156612	Intrón 2	TCTGCAGTCATGTACA	eeekdddddiddk	81	2133
542125	156890	156905	Intrón 2	TGGTTTGTCAATCCTT	eeekdddddiddk	97	2134
542126	156892	156907	Intrón 2	CTTGTTTGTCAATCC	eeekdddddiddk	99	2135
542127	157204	157219	Intrón 2	GCTACAATGCACAGGA	eeekdddddiddk	98	2136
542128	157205	157220	Intrón 2	TGCTACAATGCACAGG	eeekdddddiddk	98	2137
542129	158008	158023	Intrón 2	GATATTATTGCTGTA	eeekdddddiddk	61	2138
542130	158009	158024	Intrón 2	TGATATTATTGCTGT	eeekdddddiddk	41	2139
542131	158010	158025	Intrón 2	CTGATATTATTGCTG	eeekdddddiddk	86	2140
542132	162752	162767	Intrón 2	AGGGTCTTTACAAAAGT	eeekdddddiddk	69	2141
542133	162753	162768	Intrón 2	CAGGGTCTTTACAAAAG	eeekdddddiddk	71	2142

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
542134	162754	162769	Intrón 2	CCAGGGTCTTTACAAA	eeekddddd	2143
542135	166353	166368	Intrón 2	TTCTGCAGTATCCTAG	eeekddddd	2144
542136	166354	166369	Intrón 2	TTTCTGCAGTATCCTA	eeekddddd	2145
542137	166355	166370	Intrón 2	GTTTCTGCAGTATCCT	eeekddddd	2146
542138	166356	166371	Intrón 2	AGTTTCTGCAGTATCC	eeekddddd	2147
542139	166357	166372	Intrón 2	CAGTTTCTGCAGTATC	eeekddddd	2148
542140	172747	172762	Intrón 2	CAAAATCCAGTCCTAG	eeekddddd	2149
542141	172748	172763	Intrón 2	CCAAAATCCAGTCCTA	eeekddddd	2150
542142	172749	172764	Intrón 2	TCCAAAATCCAGTCCT	eeekddddd	2151
542143	175372	175387	Intrón 2	ACCCATTTCA TCCATT	eeekddddd	2152
542144	175373	175388	Intrón 2	AACCCATTTCA TCCAT	eeekddddd	2153
542145	175374	175389	Intrón 2	GAACCCATTTCA TCCA	eeekddddd	2154
542146	175375	175390	Intrón 2	GGAAACCCATTTCA TCC	eeekddddd	2155
542147	175376	175391	Intrón 2	AGGAACCCATTTCA TATC	eeekddddd	2156
542148	189120	189135	Intrón 2	GCTTCATGCTTTTCTA	eeekddddd	2157
542149	189121	189136	Intrón 2	TGCTTCATGCTTTTCT	eeekddddd	2158
542150	189122	189137	Intrón 2	GTGCTTCATGCTTTTC	eeekddddd	2159
542151	189485	189500	Intrón 2	TGAGCTTAGCAGTCAC	eeekddddd	2160
542152	189486	189501	Intrón 2	ATGAGCTTAGCAGTCA	eeekddddd	2161
542153	189487	189502	Intrón 2	CATGAGCTTAGCAGTC	eeekddddd	2162
542154	191143	191158	Intrón 2	TACAGACATAGCTCTA	eeekddddd	2163
542155	191144	191159	Intrón 2	ATACAGACATAGCTCT	eeekddddd	2164
542156	191145	191160	Intrón 2	GATACAGACATAGCTC	eeekddddd	2165
542157	191146	191161	Intrón 2	GGATACAGACATAGCT	eeekddddd	2166

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	SEQ ID NO
542158	198149	198164	Intrón 2	TGTGGCTTTAATTCAC	eeekdddddskk	2167
542159	198150	198165	Intrón 2	ATGTGGCTTTAATTCAC	eeekdddddskk	2168
542160	198151	198166	Intrón 2	TATGTGGCTTTAATTC	eeekdddddskk	2169
542161	19817	19832	Intrón 2	TGTTCAAGTTGCATCAC	eeekdddddskk	2170
542162	19818	19833	Intrón 2	GTGTTCAAGTTGCATCA	eeekdddddskk	2171
542163	19819	19834	Intrón 2	TGTGTTCAAGTTGCATC	eeekdddddskk	2172
542164	210562	210577	Intrón 3	CATCTGGATGTGAGGC	eeekdddddskk	2173
542165	210563	210578	Intrón 3	ACATCTGGATGTGAGG	eeekdddddskk	2174
542166	210564	210579	Intrón 3	CACATCTGGATGTGAG	eeekdddddskk	2175
542167	219020	219035	Intrón 3	TCAGGTAATTTCTGGA	eeekdddddskk	2176
542168	219021	219036	Intrón 3	CTCAGGTAATTTCTGG	eeekdddddskk	2177
542169	219022	219037	Intrón 3	TCTCAGGTAATTTCTG	eeekdddddskk	2178
542170	225568	225583	Intrón 3	TGCTTATTTACCTGGG	eeekdddddskk	2179
542171	225569	225584	Intrón 3	TTGCTTATTTACCTGG	eeekdddddskk	2180
542172	225570	225585	Intrón 3	TTTGCTTATTTACCTG	eeekdddddskk	2181
542173	225571	225586	Intrón 3	TTTTGCTTATTTACCT	eeekdddddskk	2182
542174	229619	229634	Intrón 3	ATGATGTTACTACTAC	eeekdddddskk	2183
542175	229620	229635	Intrón 3	AATGATGTTACTACTA	eeekdddddskk	2184
542176	229621	229636	Intrón 3	CAATGATGTTACTACT	eeekdddddskk	2185
542177	232827	232842	Intrón 3	CCCCCTAGAGCAATGGT	eeekdddddskk	2186
542178	232828	232843	Intrón 3	CCCCCTAGAGCAATGG	eeekdddddskk	2187
542179	232829	232844	Intrón 3	TCCCCCTAGAGCAATG	eeekdddddskk	2188
542180	237676	237691	Intrón 3	TCAATTGCAGATGCTC	eeekdddddskk	2189
542181	237677	237692	Intrón 3	CTCAATTGCAGATGCT	eeekdddddskk	2190

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a intrones 2 y 3 de la SEQ ID NO: 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO: 2 Sitio de parada	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
542182	237678	237693	Intrón 3	GCTCAATTGCAGATGC	eeekdddddiddddkke	81	2191
542183	237679	237694	Intrón 3	AGCTCAATTGCAGATG	eeekdddddiddddkke	85	2192
542184	248232	248247	Intrón 3	GTATATTCAGTCCAAG	eeekdddddiddddkke	90	2193
542185	248233	248248	Intrón 3	AGTATATTCAGTCCAA	eeekdddddiddddkke	94	2194
542186	248234	248249	Intrón 3	CAGTATATTCAGTCCA	eeekdddddiddddkke	97	2195

Tabla 64

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE and cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
541262	n/a	Intrón 2	TTGGTTTGTCAATCCT	eekddddddddddkke	93	156891	1370
545316	168	Unión exón 1 - intrón 1	ACCTCCGAGCTTCGCC	eekddddddddddkke	80	3044	2196
545317	173	Unión exón-exón	GTAGGACCTCCGAGCT	eekddddddddddkke	74	n/a	2197
545318	177	Unión exón-exón	ACCTGTAGGACCTCCG	eekddddddddddkke	70	n/a	2198
545321	213	Exón 2	CAGTGCCAAGGTCAAC	eekddddddddddkke	77	144997	2199
545322	225	Exón 2	ACTTGATCCTGCCAGT	eekddddddddddkke	36	145009	2200
545332	361	Exón 4/ Intrón 3	CTCGCTCAGGTGAACG	eekddddddddddkke	57	268024	2201
545333	366	Exón 4/ Intrón 3	AGTCTCTCGCTCAGGT	eekddddddddddkke	88	268029	2202
545337	444	Unión exón 4- intrón 4	CCTTCTGGTATAGAAC	eekddddddddddkke	21	268107	2203
545340	570	Exón 5	GCTAGTTAGCTTGATA	eekddddddddddkke	39	274130	2204
545343	626	Unión exón 3- exón 4	TCTGGTTGCACTATTT	eekddddddddddkke	34	n/a	2205
545344	629	Unión exón 3- exón 4	GGATCTGGTTGCACTA	eekddddddddddkke	30	n/a	2206
545345	632	Exón 6	GGTGGATCTGGTTGCA	eekddddddddddkke	18	278926	2207
545346	638	Exón 6	GCAATGGGTGGATCTG	eekddddddddddkke	50	278932	2208
545347	647	Exón 6	CAGTTGAGGGCAATGG	eekddddddddddkke	71	278941	2209
545348	651	Exón 6	AGTCCAGTTGAGGGCA	eekddddddddddkke	58	278945	2210
545349	655	Exón 6	GTAAAGTCCAGTTGAG	eekddddddddddkke	34	278949	2211
545350	660	Exón 6	GTTCAGTAAAGTCCAG	eekddddddddddkke	52	278954	2212
545351	685	Exón 6	CTGCATGAATCCCAGT	eekddddddddddkke	77	278979	2213
545355	923	Exón 7	ACATAGAGCACCTCAC	eekddddddddddkke	38	290421	2214
545356	926	Exón 7	GTTACATAGAGCACCT	eekddddddddddkke	79	290424	2215
545357	929	Exón 7	AGTGTTACATAGAGCA	eekddddddddddkke	70	290427	2216

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE and cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2							
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio	SEQ ID NO
545362	1124	Unión exón 7-exón 8	TCCTTGAGGAGATCTG	eekddddddddddkke	3	n/a	2217
545363	1170	Exón 10	GCTATCATGAATGGCT	eekddddddddddkke	69	297587	2218
545364	1180	Exón 10	CGGGTTTATAGCTATC	eekddddddddddkke	58	297597	2219
545369	1320	Exón 10	ATCCTTCACCCCTAGG	eekddddddddddkke	46	297737	2220
545370	1328	Exón 10	GAGTCGCCATCCTTCA	eekddddddddddkke	60	297745	2221
545371	1332	Exón 10	TCCAGAGTCGCCATCC	eekddddddddddkke	51	297749	2222
545373	1418	Exón 10	GGCTGAGCAACCTCTG	eekddddddddddkke	80	297835	2223
545374	1422	Exón 10	CTGTGGCTGAGCAACC	eekddddddddddkke	63	297839	2224
545380	1524	Exón 10	GATAACACTGGGCTGC	eekddddddddddkke	60	297941	2225
545381	1530	Exón 10	TGCTTGATAAACA	eekddddddddddkke	76	297947	2226
545382	1533	Exón 10	CTCTGCTTGATAACA	eekddddddddddkke	60	297950	2227
545386	1600	Exón 10	GCTGAATATGGGCAGC	eekddddddddddkke	29	298017	2228
545387	1613	Exón 10	CTTGATTGCTTAGCT	eekddddddddddkke	59	298030	2229
545388	1645	Exón 10	CCTGGGCATAAAAGTC	eekddddddddddkke	47	298062	2230
545392	1832	Exón 10	ACCTTGATGTGAGGAG	eekddddddddddkke	44	298249	2231

Tabla 65

Inhibición de ARNm de GHR por gapners desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio
541262	n/a	Intrón 2	TGGTTGTCAATCCT	eeekdddddskke	89	156891
545393	1838	Exón 10	GATCAACCTTGATGT	eeekdddddskke	40	298255
545394	1844	Exón 10	ATGTGTGATCAACCT	eeekdddddskke	80	298261
545395	1956	Exón 10	TGGACAGGCATCTCA	eeekdddddskke	29	298373
545396	1961	Exón 10	TAGTCTGGACAGGCA	eeekdddddskke	48	298378
545397	1968	Exón 10	GGAGGTATAGCTGGG	eeekdddddskke	61	298385
545398	1986	Exón 10	GGACTGTACTATATGA	eeekdddddskke	48	298403
545401	2077	Exón 10	TCAGTTGGTCTGTGCT	eeekdddddskke	60	298494
545402	2095	Exón 10	GCTAAGGCATGATTTT	eeekdddddskke	53	298512
545406	2665	Exón 10	GCCATGCTTGAAGTCT	eeekdddddskke	87	299082
545407	2668	Exón 10	ATAGCCATGCTTGAAG	eeekdddddskke	70	299085
545408	2692	Exón 10	ACACAGTGTGTAGTGT	eeekdddddskke	60	299109
545409	2699	Exón 10	CTGCAGTACACAGTGT	eeekdddddskke	31	299116
545410	2704	Exón 10	ACCAACTGCAGTACAC	eeekdddddskke	57	299121
545411	2739	Exón 10	TAGACTGTAGTTGCTA	eeekdddddskke	53	299156
545412	2747	Exón 10	ACCAGCTTTAGACTGT	eeekdddddskke	56	299164
545413	2945	Exón 10	GTAAGTTGATCTGTGC	eeekdddddskke	79	299362
545414	2963	Exón 10	TACTTCTTTTGGTGCC	eeekdddddskke	82	299380
545416	3212	Exón 10	TCTTGACCTTATTCC	eeekdddddskke	73	299629
545417	3306	Exón 10	TGGTTATAGGCTGTGA	eeekdddddskke	90	299723
545418	3309	Exón 10	GTCTGGTTATAGGCTG	eeekdddddskke	88	299726
545419	3313	Exón 10	ATGTGCTGCTTATAG	eeekdddddskke	68	299730
545420	3317	Exón 10	GAGTATGTCTCTGGTT	eeekdddddskke	84	299734
545421	4049	Exón 10	GGTCTGCGATAAATGG	eeekdddddskke	69	300466

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO: 2 Sitio de inicio
545429	4424	Exón 10	GCCAGACACAACACTAGT	eeekdddddiddk	59	300841
545430	31	Exón 1	ACCGCCACTGTAGCAG	eeekdddddiddk	76	2907
545431	36	Exón 1	CCGCCACCGCCACTGT	eeekdddddiddk	94	2912
545432	103	Exón 1	GGCCTCCGGCCCCGCG	eeekdddddiddk	22	2979
545433	143	Exón 1	AGAGCGCGGGTTCCGCG	eeekdddddiddk	61	3019
545434	n/a	Intrón 1/Exón 1	TACTGACCCCAAGTTCC	eeekdddddiddk	68	3654
545435	n/a	Intrón 1/Exón 1	ACTCTACTGACCCCAAG	eeekdddddiddk	70	3658
545436	n/a	Intrón 1/Exón 1	GTCACCTACTGACCC	eeekdddddiddk	83	3661
545437	n/a	Intrón 1/Exón 1	TTCATGCGGACTGGTG	eeekdddddiddk	68	3680
545438	n/a	Intrón 3/Exón 3	GTGAGCATGGACCCCA	eeekdddddiddk	94	225436
545439	n/a	Intrón 3/Exón 3	TGATATGTGAGCATGG	eeekdddddiddk	88	225442
545440	n/a	Intrón 3/Exón 3	AAGTTGGTGAGCTTCT	eeekdddddiddk	85	226785
545441	n/a	Intrón 3/Exón 3	CCTTCAAGTTGGTGAG	eeekdddddiddk	88	226790
545442	n/a	Intrón 3/Exón 3	GTAAGATCCTTTGGCC	eeekdddddiddk	70	226883
545443	n/a	Intrón 3/Exón 3	CAGCTGTGCAACTTGC	eeekdddddiddk	50	238345
545444	n/a	Intrón 3/Exón 3	GCCTTGGTAGGTAGGG	eeekdddddiddk	68	238422
545445	n/a	Intrón 3/Exón 3	AGAGCCCTGGTAGGTA	eeekdddddiddk	85	238425
545446	n/a	Intrón 1/Exón 1	CCCGCACAAACGCGCA	eeekdddddiddk	10	3614
545447	n/a	Intrón 1/Exón 1	GTCTTCAAGGTCAGTT	eeekdddddiddk	92	93208
545448	n/a	Intrón 1/Exón 1	GCCCAGTGAAATTCAGC	eeekdddddiddk	76	93246
545449	n/a	Intrón 1/Exón 1	AGATGCGCCCCAGTGAA	eeekdddddiddk	60	93252
545450	n/a	Intrón 1/Exón 1	GTAAGATGCGCCCCAGT	eeekdddddiddk	78	93255
545451	n/a	Intrón 1/Exón 1	CCAGAAAGGCACTTGTA	eeekdddddiddk	42	93301
545452	n/a	Intrón 1/Exón 1	GGAAGATTGCAGAAC	eeekdddddiddk	15	93340

(continuación)

Inhibición de ARNm de GHR por gapmers desoxi, MOE y cEt dirigidos a regiones intrónicas y exónicas de las SEQ ID NO: 1 y 2						
Nº ISIS	SEQ ID NO: 1 Sitio de inicio	Región objetivo	Secuencia	Química	% de inhibición	SEQ ID NO
545453	n/a	Intrón 1/Exón 1	CCTTGGTCATGGAAGA	eeekdddddiddddk	35	2279
545454	n/a	Intrón 1/Exón 1	TGACCTTGGTCATGGA	eeekdddddiddddk	55	2280
545455	n/a	Intrón 1/Exón 1	GAGGTGACCTTGGTCA	eeekdddddiddddk	70	2281
545456	n/a	Intrón 1/Exón 1	ATCCAAAGAGGTGACC	eeekdddddiddddk	41	2282
545457	n/a	Intrón 1/Exón 1	GCCAAATCCAAAGAGGT	eeekdddddiddddk	56	2283
545458	n/a	Intrón 1/Exón 1	GGTCTGCCAATCCAAA	eeekdddddiddddk	79	2284
545459	n/a	Intrón 1/Exón 1	CCCTGGGTCTGCCAAT	eeekdddddiddddk	68	2285
545460	n/a	Intrón 1/Exón 1	GAGATCTCAACAAGGG	eeekdddddiddddk	52	2286
545461	n/a	Intrón 1/Exón 1	CGCCCCATCACTCTTCC	eeekdddddiddddk	68	2287
545462	n/a	Intrón 1/Exón 1	CACCTGTCGCCCATCA	eeekdddddiddddk	67	2288
545463	n/a	Intrón 1/Exón 1	CATCACCTGTCGCCCA	eeekdddddiddddk	78	2289
545464	n/a	Intrón 1/Exón 1	CACCATCACCTGTGCGC	eeekdddddiddddk	74	2290
545465	n/a	Intrón 1/Exón 1	AATAGTTGTCACCATC	eeekdddddiddddk	76	2291
545466	n/a	Intrón 1/Exón 1	GCCACCTTTCATGAGA	eeekdddddiddddk	58	2292
545467	n/a	Intrón 2/Exón 2	CTCTTGAAAGTAGGTA	eeekdddddiddddk	89	2293
545468	n/a	Intrón 2/Exón 2	GTTCTCTTGAAAGTAG	eeekdddddiddddk	80	2294
545469	n/a	Intrón 2/Exón 2	TAAACAGGTGCTCTG	eeekdddddiddddk	68	2295

Ejemplo 8: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR humana en células Hep3B por gapmers de desoxi, MOE y cEt

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Las células se sembraron a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,625 μ M, 1,25 μ M, 2,50 μ M, 5,00 μ M y 10,00 μ M. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 66

Nº ISIS	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
541396	30	51	68	74	67	1.4
541262	55	87	90	94	97	0.2
541393	30	38	52	66	81	2.1
541375	41	45	54	64	79	1.6
541438	44	49	75	80	91	0.9
541428	35	32	56	78	88	1.8
541491	13	46	67	55	95	2.0
541435	21	46	55	72	94	1.9
541471	11	49	50	77	89	2.0
541430	24	44	56	57	79	2.2
541492	32	40	65	80	85	1.5
541431	22	46	73	84	92	1.5

Tabla 67

Nº ISIS	0.625 μ M	1.250 μ M	2.50 μ M	5.00 μ M	10.00 μ M	IC ₅₀ (μ M)
541487	36	46	66	85	92	1.3
541423	33	55	64	80	93	1.2
541452	37	60	79	87	94	0.9
541505	51	75	86	92	97	0.4
541522	54	76	81	90	95	0.3
541539	65	76	85	94	98	0.2
541503	54	65	80	93	97	0.5
541520	43	61	86	94	96	0.7
541515	57	72	85	92	94	0.3
541564	57	72	88	90	97	0.3
541554	43	65	81	89	93	0.7
541509	11	8	19	6	8	>10
541584	59	65	84	91	96	0.3

ES 2 787 600 T3

(continuación)

5	Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
	541585	70	80	93	92	98	0.1

Tabla 68

10	Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
	541598	26	43	75	80	76	1.5
	541592	35	48	67	85	95	1.2
15	541641	22	63	70	91	93	1.2
	541590	27	59	70	94	95	1.2
	541615	40	65	84	88	94	0.7
20	541595	35	57	73	84	95	1.0
	541575	49	60	79	84	95	0.6
	541571	41	50	76	80	94	1.0
25	541582	0	10	25	50	82	4.4
	541262	66	79	93	94	99	<0.6
	541652	1	44	80	82	87	1.9
30	541670	29	40	63	79	89	1.6
	541662	17	13	45	62	84	3.1
	541724	37	47	72	85	95	1.2

Tabla 69

35	Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
	541748	86	94	96	98	98	<0.6
40	541767	83	91	95	96	98	<0.6
	541797	78	89	93	97	99	<0.6
45	541766	59	82	92	97	99	<0.6
	541742	65	87	93	95	99	<0.6
	541750	80	86	96	96	99	<0.6
50	541262	79	88	93	97	97	<0.6
	541749	71	84	93	95	98	<0.6
	541793	71	88	94	97	98	<0.6
55	541785	56	79	89	93	98	<0.6
	541746	34	61	85	94	97	0.9
	541752	49	72	88	93	93	<0.6
60	541826	86	94	95	99	98	<0.6
	541811	66	87	93	97	98	<0.6

Tabla 70

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541822	83	88	95	96	96	<0.6
541870	77	87	95	97	98	<0.6
541262	85	93	96	97	98	<0.6
541873	32	77	93	94	97	0.7
541819	60	91	97	97	99	<0.6
541841	86	91	95	96	97	<0.6
541825	78	88	95	98	98	<0.6
541863	63	77	87	93	97	<0.6
541827	42	80	87	94	97	<0.6
541875	77	84	93	96	97	<0.6
541835	56	73	90	95	98	<0.6
541838	72	90	93	98	97	<0.6
541833	52	69	83	92	97	<0.6
541813	47	75	86	95	97	<0.6

Tabla 71

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541853	74	79	88	93	91	<0.6
541842	69	85	91	97	99	<0.6
541877	79	91	93	98	97	<0.6
541848	58	90	96	98	98	0.7
541804	23	81	89	95	95	0.8
541881	87	94	98	98	99	<0.6
541936	91	96	98	99	98	<0.6
541909	56	80	89	95	97	<0.6
541907	75	91	95	97	98	<0.6
541952	68	81	93	97	98	<0.6
541953	68	80	94	97	98	<0.6
541914	60	78	94	97	97	<0.6
541880	56	74	89	94	95	<0.6
541903	37	74	87	96	98	0.6

Tabla 72

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541895	47	72	85	93	94	<0.6
541882	60	67	89	93	97	<0.6
541889	63	80	87	94	97	<0.6

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541904	26	78	23	89	93	1.4
545418	0	81	91	94	95	1.7
541930	58	71	82	88	92	<0.6
545439	67	87	93	96	98	<0.6
542024	15	58	78	87	90	1.4
541985	59	81	88	93	97	<0.6
541972	47	58	83	90	92	0.6
541991	57	64	88	92	83	<0.6
541980	33	50	76	72	93	1.2

Tabla 73

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541264	26	44	64	79	89	1.6
541265	29	32	62	79	91	1.8
541263	25	40	62	78	93	1.7
541268	57	73	85	90	95	0.3
541266	15	33	46	66	90	2.5
542107	93	97	98	98	98	<0.6
542052	93	96	97	96	98	<0.6
542105	80	92	96	98	97	<0.6
542102	94	96	96	97	98	<0.6
542108	90	92	94	97	99	<0.6
542080	87	93	95	95	97	<0.6

Tabla 74

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542101	90	97	97	97	95	<0.6
542051	89	96	95	98	97	<0.6
542106	83	93	96	96	98	<0.6
542071	84	91	94	97	97	<0.6
542094	85	92	94	97	98	<0.6
542069	89	94	97	95	98	<0.6
542086	83	94	96	97	98	<0.6
542085	85	92	96	97	97	<0.6
542053	64	83	94	98	97	<0.6
542087	69	84	99	95	98	<0.6
542109	87	94	96	98	98	<0.6

ES 2 787 600 T3

(continuación)

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542126	96	98	99	98	98	<0.6
542127	94	96	97	98	97	<0.6
542128	90	96	98	98	97	<0.6

Tabla 75

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542118	97	97	98	95	43	<0.6
542186	93	96	98	99	98	<0.6
542150	95	97	98	99	99	<0.6
542122	90	94	98	98	99	<0.6
542125	88	97	98	98	99	<0.6
542145	90	96	98	99	99	<0.6
542112	86	94	99	99	99	<0.6
542149	88	93	99	98	99	<0.6
542146	79	93	96	97	98	<0.6
542153	87	94	97	98	99	<0.6
542119	64	84	93	97	98	<0.6
542137	76	91	97	97	98	<0.6
542152	84	94	96	96	97	<0.6
542157	83	95	98	99	98	<0.6

Tabla 76

Nº ISIS	0.625 µM	1.250 µM	2.50 µM	5.00 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542185	82	93	96	96	94	<0.6
542143	81	91	96	98	98	<0.6
542144	77	93	95	96	99	<0.6
542139	87	93	98	98	98	<0.6
542134	83	90	90	95	96	<0.6
545333	68	85	91	96	98	<0.6
545373	57	73	86	92	97	<0.6
545438	84	96	98	97	99	<0.6
545431	77	91	93	97	98	<0.6
545447	70	85	96	96	97	<0.6
545417	62	82	90	93	95	<0.6
545467	77	88	91	94	95	<0.6
545441	63	82	92	94	96	<0.6

Ejemplo 9: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR humana en células Hep3B por gapmers de desoxi, MOE y cEt

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos antisentido se probaron en una serie de experimentos que tenían condiciones de cultivo similares. Los resultados para cada experimento se presentan en tablas separadas que se muestran a continuación. Las células se sembraron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,04 μM , 0,11 μM , 0,33 μM , 1,00 μM y 3,00 μM . Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC_{50}) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 77

Nº ISIS	0.04 μM	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	IC_{50} (μM)
539380	11	16	57	93	98	0.2
541724	0	27	71	66	83	0.3
541748	28	40	71	90	97	0.1
541767	19	38	54	87	98	0.2
541797	23	46	70	88	97	0.1
541766	15	26	49	82	96	0.3
541742	17	28	41	80	95	0.3
541750	33	27	60	89	98	0.2
541749	27	16	62	84	82	0.2
541793	0	14	44	77	96	0.4
541785	4	11	39	75	95	0.4
541752	14	6	45	70	94	0.4
541826	8	34	74	94	99	0.2
541811	6	4	45	79	97	0.4
541822	9	29	67	89	97	0.2

Tabla 78

Nº ISIS	0.04 μM	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	IC_{50} (μM)
539380	0	16	47	82	98	0.4
541819	3	12	50	76	94	0.3
541841	0	19	47	80	95	0.3
541825	0	6	40	74	96	0.4
541827	5	26	48	76	95	0.3
541835	7	11	33	74	93	0.4
541838	21	26	61	90	97	0.2
541833	0	9	41	63	89	0.5
541813	0	17	28	65	92	0.5
541842	5	15	30	72	90	0.4

ES 2 787 600 T3

(continuación)

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541804	0	12	3	49	79	1.1
542024	0	0	26	54	76	1.0
542107	15	45	78	92	99	0.1
542105	2	14	55	88	98	0.3
542102	10	16	73	88	98	0.2

Tabla 79

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539380	4	18	50	86	95	0.3
542108	15	13	65	86	97	0.2
542101	17	40	68	92	98	0.2
542106	4	23	56	88	98	0.3
542094	0	30	51	86	96	0.3
542086	13	38	50	84	97	0.2
542085	0	27	57	90	98	0.3
542087	7	3	49	80	92	0.4
542109	17	10	56	88	98	0.3
542126	40	63	91	96	99	<0.03
542127	27	47	69	93	97	0.1
542128	11	30	66	90	98	0.2
542118	14	42	77	95	98	0.1
542150	31	46	72	94	98	0.1
542122	13	14	59	90	97	0.3

Tabla 80

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539380	0	2	50	86	97	0.4
542125	31	32	69	89	96	0.1
542145	15	29	64	91	97	0.2
542112	14	38	61	87	96	0.2
542149	9	37	63	90	97	0.2
542146	13	33	59	82	95	0.2
542153	22	26	63	86	96	0.2
542119	10	20	34	70	87	0.4
542137	3	19	47	77	95	0.3
542152	0	9	47	82	96	0.4
542157	0	26	56	84	96	0.3

(continuación)

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542143	8	12	44	81	95	0.3
542144	0	21	42	75	95	0.4
542139	0	14	46	82	97	0.4
542134	3	23	43	72	92	0.4

Tabla 81

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539380	0	9	64	85	97	0.3
541870	7	15	48	80	92	0.3
541262	0	29	63	90	98	0.2
541863	0	26	40	82	93	0.4
541875	6	30	71	84	91	0.2
541853	0	13	39	67	91	0.5
541877	0	26	41	79	94	0.4
541881	0	30	54	87	94	0.3
541936	20	41	73	93	98	0.1
541909	0	16	34	64	90	0.5
541907	6	31	59	84	96	0.2
541952	0	0	50	72	92	0.5
541953	0	22	50	80	92	0.4
541914	0	0	46	76	93	0.4
541880	0	13	48	79	89	0.4

Tabla 82

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539380	0	5	53	78	94	0.4
541903	12	20	26	62	88	0.5
541895	3	12	29	66	92	0.5
541882	2	0	27	65	86	0.7
541889	12	12	47	68	87	0.4
541930	0	6	40	59	85	0.6
541985	0	16	41	66	93	0.4
542031	1	0	22	55	80	0.8
541972	0	1	23	46	83	0.9
541991	4	35	42	67	89	0.4
542052	5	28	70	92	98	0.2
542080	0	18	54	87	96	0.3

(continuación)

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542051	0	18	52	86	97	0.3
542071	5	3	51	74	95	0.4
542069	0	7	56	85	94	0.3

Tabla 83

Nº ISIS	0.04 µM	0.11 µM	0.33 µM	1.00 µM	3.00 µM	IC ₅₀ (µM)
539380	11	20	54	89	92	0.3
542053	6	14	38	69	74	0.6
542186	14	43	70	90	98	0.2
542185	0	26	48	80	96	0.3
545333	0	4	27	65	90	0.6
545336	0	15	24	43	79	0.9
545373	0	2	9	42	86	1.0
545438	0	24	56	81	92	0.3
545431	0	18	50	73	91	0.4
545447	0	15	34	78	93	0.4
545417	0	11	39	66	87	0.5
545467	12	16	37	76	93	0.4
545441	21	15	20	60	87	0.6
545439	17	24	49	82	91	0.3

Ejemplo 10: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR de mono rhesus en células LLC-MK2

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron su potencia para el ARNm de GHR rhesus en células LLC-MK2. Las células se sembraron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,12 µM, 0,37 µM, 1,11 µM, 3,33 µM y 10,00 µM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda RTS3437MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 84

Nº ISIS	Química	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541262	Desoxi, MOE y cEt	9	25	42	85	91	1.1
541742	Desoxi, MOE y cEt	0	24	19	58	77	3.2
541767	Desoxi, MOE y cEt	6	10	30	68	88	2.0
541875	Desoxi, MOE y cEt	7	19	64	84	96	0.9
541881	Desoxi, MOE y cEt	6	24	59	79	91	1.0
542101	Desoxi, MOE y cEt	0	5	38	71	81	2.0

(continuación)

Nº ISIS	Química	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
542112	Desoxi, MOE y cEt	5	17	33	67	76	2.0
542118	Desoxi, MOE y cEt	1	6	35	68	86	2.0
542125	Desoxi, MOE y cEt	0	12	57	83	93	1.0
542127	Desoxi, MOE y cEt	1	0	30	68	84	2.4
542128	Desoxi, MOE y cEt	12	0	26	58	83	2.7
542153	Desoxi, MOE y cEt	4	0	0	36	59	6.6
542185	Desoxi, MOE y cEt	4	0	25	56	87	2.5
542186	Desoxi, MOE y cEt	15	23	51	73	90	1.1
542051	Desoxi, MOE y cEt	5	19	40	81	94	1.2

Tabla 85

Nº ISIS	Química	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523723	5-10-5 MOE	23	14	31	43	71	3.5
532254	5-10-5 MOE	29	35	42	69	87	0.8
532401	5-10-5 MOE	27	28	46	73	88	1.2
533932	5-10-5 MOE	10	24	48	70	92	1.2
539376	3-10-4 MOE	21	8	8	35	81	4.3
539399	3-10-4 MOE	2	10	14	18	57	8.3
539404	3-10-4 MOE	39	12	25	27	57	7.7
539416	3-10-4 MOE	24	35	44	79	89	1.0
539432	3-10-4 MOE	9	29	42	73	89	1.2
541262	Desoxi, MOE y cEt	0	43	63	88	94	0.8
541742	Desoxi, MOE y cEt	3	19	35	56	85	1.9
541767	Desoxi, MOE y cEt	3	24	39	64	86	1.6
545439	Desoxi, MOE y cEt	19	15	43	74	80	1.7
545447	Desoxi, MOE y cEt	25	34	58	80	90	0.6

Ejemplo 11: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR en hepatocitos primarios de cynomolgus

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR fueron seleccionados y probados para determinar su potencia para el ARNm de GHR en hepatocitos primarios de mono cynomolgus. Las células se sembraron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,12 µM, 0,37 µM, 1,11 µM, 3,33 µM y 10,00 µM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda RTS3437MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 86

Nº ISIS	Química	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541262	Desoxi, MOE y cEt	40	52	75	92	98	0.3
541742	Desoxi, MOE y cEt	40	57	51	91	96	0.2
541767	Desoxi, MOE y cEt	36	59	60	78	91	0.4
541875	Desoxi, MOE y cEt	54	76	88	95	95	<0.1
541881	Desoxi, MOE y cEt	53	75	85	98	98	<0.1
542101	Desoxi, MOE y cEt	38	55	78	89	97	0.2
542112	Desoxi, MOE y cEt	28	50	74	89	96	0.4
542118	Desoxi, MOE y cEt	20	45	69	84	91	0.5
542125	Desoxi, MOE y cEt	33	62	77	92	97	0.3
542127	Desoxi, MOE y cEt	30	50	65	86	92	0.4
542128	Desoxi, MOE y cEt	25	40	52	80	93	0.7
542153	Desoxi, MOE y cEt	10	31	51	73	85	1.0
542185	Desoxi, MOE y cEt	12	45	65	85	93	0.6
542186	Desoxi, MOE y cEt	36	54	74	90	96	0.3
542051	Desoxi, MOE y cEt	9	29	32	32	42	>10

Tabla 87

Nº ISIS	Química	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523435	5-10-5 MOE	35	47	61	74	85	0.5
523723	5-10-5 MOE	4	16	40	66	86	1.8
532254	5-10-5 MOE	14	15	24	16	9	>10
532401	5-10-5 MOE	37	54	73	88	94	0.3
533932	5-10-5 MOE	23	40	69	78	86	0.6
539376	3-10-4 MOE	3	0	44	65	91	2.0
539399	3-10-4 MOE	0	0	9	42	67	5.0
539404	3-10-4 MOE	0	0	26	52	71	3.5
539416	3-10-4 MOE	8	29	62	89	93	0.7
539432	3-10-4 MOE	0	24	55	85	93	0.9
541262	Desoxi, MOE y cEt	23	52	73	92	96	0.4
541742	Desoxi, MOE y cEt	15	51	73	86	97	0.5
541767	Desoxi, MOE y cEt	19	20	39	68	81	1.8
545439	Desoxi, MOE y cEt	0	0	30	61	90	2.4
545447	Desoxi, MOE y cEt	0	17	17	19	27	>10

Ejemplo 12: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR en células Hep3B

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR fueron seleccionados y probados para determinar su potencia para el ARNm de GHR a varias dosis en células Hep3B. Las células se sembraron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,12 µM, 0,37 µM, 1,11 µM, 3,33 µM y 10,00 µM. Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto

de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

5 También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC₅₀) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 88

Nº ISIS	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
541262	25	43	76	85	94	0.5
541742	32	55	76	88	97	0.3
541767	29	56	83	89	97	0.3
541875	38	68	84	93	94	0.1
541881	32	57	81	94	97	0.3
542051	34	66	83	95	98	0.2
542101	25	55	85	95	98	0.3
542112	18	56	83	95	98	0.4
542118	42	61	88	95	97	0.1
542125	30	63	87	95	98	0.2
542127	50	70	91	91	98	0.1
542128	38	63	88	96	98	0.2
542153	37	59	85	94	97	0.2
542185	44	51	76	89	96	0.2
542186	46	59	84	95	97	0.1

Tabla 89

Nº ISIS	0.12 µM	0.37 µM	1.11 µM	3.33 µM	10.00 µM	IC ₅₀ (µM)
523435	9	26	49	78	93	1.0
523723	7	16	39	72	90	1.4
532254	36	46	69	86	94	0.4
532401	25	54	71	86	91	0.4
533932	8	47	69	80	94	0.7
539376	26	31	54	73	86	0.8
539399	23	43	72	89	94	0.5
539404	30	60	88	95	98	0.2
539416	30	59	84	93	98	0.3
539432	35	62	88	95	98	0.2
541262	43	60	84	89	98	0.2
541742	23	53	73	84	97	0.4
541767	22	49	74	85	92	0.4
545439	41	69	88	95	96	0.1
545447	31	47	63	74	82	0.5

Ejemplo 13: inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR en hepatocitos primarios de cynomolgus

Los gapmers de los estudios descritos anteriormente que mostraron una inhibición *in vitro* significativa del ARNm de GHR se seleccionaron y probaron a varias dosis en hepatocitos primarios de monos cynomolgus. Las células se sembraron en placas a una densidad de 35.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,04 μM , 0,12 μM , 0,37 μM , 1,1 μM , 3,33 μM y 10,00 μM . Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC_{50}) media de cada oligonucleótido. Los niveles de ARNm de GHR se redujeron significativamente de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con oligonucleótidos antisentido.

Tabla 90

Nº ISIS	0.04 μM	0.12 μM	0.37 μM	1.11 μM	3.33 μM	10.00 μM	IC_{50} (μM)
541767	8	17	29	48	59	58	0.4
541875	20	39	48	51	55	58	0.2
541881	23	36	49	60	56	58	0.1
542112	23	21	35	42	54	68	0.5
542118	19	14	26	38	54	59	0.8
542153	17	20	27	39	46	52	2.2
542185	20	23	27	46	39	56	2.0
532254	1	20	23	11	1	23	>10
532401	0	15	24	39	47	55	1.6
523723	0	0	7	24	49	54	2.0

Ejemplo 14: Análisis comparativo de la inhibición antisentido dependiente de la dosis de GHR en células Hep3B

Se comparó ISIS 532401 con oligonucleótidos antisentido específicos divulgados en la US 2006/0178325 probando a varias dosis en células Hep3B. Los oligonucleótidos se seleccionaron en base a la potencia demostrada en los estudios descritos en la solicitud. Las células se colocaron en placas a una densidad de 20.000 células por pocillo y se transfectaron usando electroporación con concentraciones de oligonucleótido antisentido de 0,11 μM , 0,33 μM , 1,00 μM , 1,11 μM , 3,00 μM y 9,00 μM . Después de un período de tratamiento de aproximadamente 16 horas, se aisló el ARN de las células y se midieron los niveles de ARNm de GHR mediante PCR cuantitativa en tiempo real. Se usó el conjunto de cebador sonda humano RTS3437_MGB para medir los niveles de ARNm. Los niveles de ARNm de GHR se ajustaron de acuerdo con el contenido total de ARN, medido por RIBOGREEN®. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición de GHR, con respecto a las células de control no tratadas.

También se presenta la concentración inhibidora máxima (IC_{50}) media de cada oligonucleótido. Los resultados indican que ISIS 532401 era marcadamente más potente que los oligonucleótidos más potentes de la US 2006/0178325.

Tabla 91

Nº ISIS	0.11 μM	0.33 μM	1.00 μM	3.00 μM	9.00 μM	IC_{50} (μM)
227452	11	12	46	73	92	1.4
227488	26	25	39	76	88	1.2
272309	16	14	39	66	91	1.6
272322	13	20	44	70	86	1.4
272328	22	20	24	43	56	5.7
272338	22	24	52	71	85	1.1
532401	34	53	72	87	94	0.3

Ejemplo 15: tolerabilidad de gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a GHR humana en ratones CD1

Los ratones CD1® (Charles River, MA) son un modelo de ratones multipropósito, frecuentemente usado para pruebas de seguridad y eficacia. Los ratones fueron tratados con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron para detectar cambios en los niveles de varios marcadores de química del plasma.

Tratamiento

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a diez semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótidos ISIS (dosis de 100 mg/kg/semana). A un grupo de ratones CD1 macho se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Marcadores de química de plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, bilirrubina, creatinina y BUN usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 92. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de la función hepática o renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 92

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	31	50	0.28	0.15	28
ISIS 523271	366	285	0.18	0.11	29
ISIS 523324	222	139	0.19	0.10	31
ISIS 523604	2106	1157	0.41	0.06	48
ISIS 532254	66	84	0.11	0.10	27
ISIS 533121	176	155	0.19	0.09	27
ISIS 533161	1094	904	0.23	0.07	29
ISIS 533178	78	83	0.18	0.08	28
ISIS 533234	164	147	0.21	0.09	26

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y plaquetas, y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 93. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 93

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	45	13	8.2	4.1	689
ISIS 523271	42	12	7.9	4.5	1181
ISIS 523324	39	11	7.5	7.9	980
ISIS 523604	33	10	6.9	14.1	507
ISIS 532254	35	10	6.9	7.2	861

(continuación)

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
ISIS 533121	39	12	7.9	8.4	853
ISIS 533161	49	14	9.3	9.0	607
ISIS 533178	44	13	8.5	6.9	765
ISIS 533234	42	12	7.8	9.2	1045

Ejemplo 16: tolerabilidad de gapmers 5-10-5 MOE dirigidos a GHR humana en ratones CD1

Los ratones CD1® se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron los cambios en los niveles de varios marcadores químicos en plasma.

Tratamiento

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a diez semanas de edad se les inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis de 100 mg/kg/semana). A un grupo de ratones CD1 macho se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Marcadores de química de plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, bilirrubina, creatinina y BUN usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 94. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de la función hepática o renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 94

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	30	59	0.26	0.14	20
ISIS 523715	636	505	0.24	0.14	22
ISIS 523723	57	80	0.20	0.16	23
ISIS 523726	165	167	0.18	0.15	23
ISIS 523736	140	177	0.20	0.15	23
ISIS 523747	96	108	0.17	0.14	23
ISIS 523789	45	74	0.20	0.15	22
ISIS 532395	64	111	0.23	0.12	21
ISIS 532401	47	88	0.21	0.17	22
ISIS 532411	225	426	0.17	0.16	22
ISIS 532420	60	99	0.21	0.12	25
ISIS 532468	319	273	0.15	0.14	21
ISIS 533932	62	81	0.18	0.14	21

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WB), RBC y plaquetas, y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 95. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 95

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	43	13	8.1	3.3	1047
ISIS 523715	40	12	8.1	4.2	1153
ISIS 523723	35	11	6.8	2.9	1154
ISIS 523726	32	10	6.8	5.8	1056
ISIS 523736	35	11	7.1	3.6	1019
ISIS 523747	37	11	7.7	2.8	1146
ISIS 523789	37	11	7.3	2.5	1033
ISIS 532395	37	11	7.4	4.5	890
ISIS 532401	36	11	7.1	3.7	1175
ISIS 532411	27	8	5.3	3.2	641
ISIS 532420	35	11	7.0	3.3	1101
ISIS 532468	36	11	7.4	4.0	1043
ISIS 533932	36	11	7.2	3.8	981

Ejemplo 17: tolerabilidad de gapmers 3-10-4 MOE dirigidos a GHR humana en ratones CD1

Los ratones CD1® se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron para cambios en los niveles de varios marcadores químicos en plasma.

Tratamiento

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a diez semanas de edad se les inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis de 100 mg/kg/semana). A un grupo de ratones CD1 macho se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Marcadores de química de plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, bilirrubina, creatinina y BUN usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 96. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 96

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	48	63	0.20	0.13	28
ISIS 539302	204	192	0.15	0.15	24

(continuación)

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
ISIS 539321	726	455	0.17	0.12	27
ISIS 539360	3287	2495	0.58	0.13	22
ISIS 539361	310	226	0.17	0.11	21
ISIS 539376	77	75	0.14	0.12	27
ISIS 539379	134	136	0.16	0.13	24
ISIS 539380	180	188	0.14	0.12	23
ISIS 539383	80	81	0.15	0.12	25
ISIS 539399	119	127	0.13	0.12	24
ISIS 539401	1435	1172	0.24	0.11	24
ISIS 539403	1543	883	0.18	0.12	26
ISIS 539404	75	109	0.16	0.13	23
ISIS 539416	100	107	0.19	0.15	26
ISIS 539432	55	64	0.20	0.14	22
ISIS 539433	86	91	0.12	0.13	22

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y plaquetas, y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 97. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 97

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	46	13	8.5	6	954
ISIS 539302	40	11	8.1	13	830
ISIS 539321	39	11	7.8	16	723
ISIS 539360	49	14	9.0	14	671
ISIS 539361	45	13	8.5	9	893
ISIS 539376	42	12	7.7	6	988
ISIS 539379	42	12	8.1	7	795
ISIS 539380	38	10	7.7	8	950
ISIS 539383	45	12	8.4	8	795
ISIS 539399	41	12	8.0	10	895
ISIS 539401	41	11	8.2	9	897
ISIS 539403	33	9	6.2	13	1104
ISIS 539404	42	12	8.4	7	641
ISIS 539416	41	11	7.5	5	686

(continuación)

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
ISIS 539432	44	12	8.0	6	920
ISIS 539433	40	11	7.4	6	987

Ejemplo 18: tolerabilidad de gapmers de desoxi, MOE y cEt dirigidos a GHR humana en ratones CD1

Los ratones CD1® se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron los cambios en los niveles de varios marcadores químicos en plasma.

Tratamiento

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a diez semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 25 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis de 50 mg/kg/semana). A un grupo de ratones CD1 macho se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Marcadores de química de plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, bilirrubina, creatinina y BUN usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 98. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función hepática o renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 98

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	36	71	0.22	0.18	22
ISIS 541262	115	133	0.21	0.18	21
ISIS 541724	543	531	0.34	0.17	21
ISIS 541742	44	71	0.18	0.16	21
ISIS 541748	269	582	0.16	0.15	22
ISIS 541749	626	491	0.20	0.20	22
ISIS 541750	1531	670	0.20	0.18	23
ISIS 541766	2107	1139	0.21	0.21	23
ISIS 541767	42	62	0.21	0.17	20
ISIS 541822	493	202	0.13	0.16	22
ISIS 541826	889	398	0.21	0.14	17
ISIS 541838	266	172	0.16	0.15	20
ISIS 541870	445	272	0.23	0.16	23
ISIS 541875	103	114	0.20	0.15	20
ISIS 541907	940	725	0.16	0.19	35
ISIS 541991	1690	1733	0.31	0.20	23

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y plaquetas, y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 99. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 99

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	37	11	7	3	1083
ISIS 541262	38	11	7	6	1010
ISIS 541724	52	16	10	9	940
ISIS 541742	47	14	9	6	1134
ISIS 541748	41	12	8	7	941
ISIS 541749	41	12	8	5	1142
ISIS 541750	42	12	8	4	1409
ISIS 541766	39	11	7	7	989
ISIS 541767	46	14	9	2	994
ISIS 541822	42	12	8	3	1190
ISIS 541826	41	12	8	10	1069
ISIS 541838	44	13	8	6	1005
ISIS 541870	38	11	7	8	1020
ISIS 541875	44	13	8	6	1104
ISIS 541907	40	11	8	9	1271
ISIS 541991	34	10	6	6	1274

Ejemplo 19: tolerabilidad de separadores de desoxi, MOE y cEt dirigidos a GHR humana en ratones CD1

Los ratones CD1® se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron para cambios en los niveles de varios marcadores químicos en plasma. El 3-10-4 MOE gapmer ISIS 539376 también se incluyó en el estudio.

Tratamiento

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a diez semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 25 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis de 50 mg/kg/semana). A un grupo de ratones CD1 macho se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Marcadores de química de plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, bilirrubina, creatinina y BUN usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 100. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de la función hepática o renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 100

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	43	66	0.21	0.11	20
ISIS 541881	63	109	0.28	0.13	23
ISIS 541936	3260	2108	0.40	0.13	24
ISIS 542051	97	119	0.23	0.12	23
ISIS 542052	454	236	0.23	0.12	25
ISIS 542069	293	211	0.23	0.13	27
ISIS 542085	91	87	0.18	0.10	21
ISIS 542086	137	133	0.24	0.10	23
ISIS 542094	86	143	0.23	0.13	21
ISIS 542101	46	74	0.19	0.10	21
ISIS 542102	4920	2432	2.30	0.15	29
ISIS 542105	1255	575	0.35	0.13	21
ISIS 542106	3082	2295	3.42	0.17	23
ISIS 542107	4049	3092	0.50	0.14	20
ISIS 542108	1835	859	0.32	0.11	21
ISIS 539376	40	79	0.27	0.08	22

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 101. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 101

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6				
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	46	13	8	6
ISIS 541881	53	15	10	7
ISIS 541936	41	11	8	18
ISIS 542051	49	14	9	8
ISIS 542052	46	13	9	9
ISIS 542069	43	13	8	7
ISIS 542085	38	11	7	5
ISIS 542086	49	14	9	9
ISIS 542094	36	10	6	5
ISIS 542101	44	13	9	5
ISIS 542102	27	7	5	25
ISIS 542105	42	12	8	7

(continuación)

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6				
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)
ISIS 542106	37	10	7	14
ISIS 542107	41	12	7	17
ISIS 542108	51	14	8	10
ISIS 539376	49	14	10	5

Ejemplo 20: tolerabilidad de gapmers de desoxi, MOE y cEt dirigidos a GHR humana en ratones CD1

Los ratones CD1® se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos anteriormente y se evaluaron para cambios en los niveles de varios marcadores químicos en plasma.

Tratamiento

A grupos de ratones CD1 macho de ocho a diez semanas de edad se les inyectaron por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 25 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis de 50 mg/kg/semana). A un grupo de ratones CD1 macho se le inyectó por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Marcadores de química de plasma

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática y renal, se midieron los niveles en plasma de transaminasas, bilirrubina, creatinina y BUN usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 102. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de la función hepática o renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 102

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
PBS	51	63	0.3	0.14	27
ISIS 542109	3695	2391	0.8	0.19	24
ISIS 542112	119	104	0.3	0.16	28
ISIS 542118	66	86	0.3	0.15	26
ISIS 542122	1112	350	0.3	0.16	27
ISIS 542125	79	92	0.2	0.13	26
ISIS 542126	381	398	0.5	0.14	23
ISIS 542127	54	85	0.3	0.16	26
ISIS 542128	55	89	0.2	0.12	24
ISIS 542145	834	671	0.3	0.11	24
ISIS 542146	163	107	0.2	0.14	30
ISIS 542149	974	752	0.3	0.12	26
ISIS 542150	2840	2126	2.4	0.17	23
ISIS 542153	53	75	0.2	0.14	28
ISIS 542157	137	122	0.3	0.13	25

(continuación)

Marcadores de química de plasma en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	Bilirrubina (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	BUN (mg/dl)
ISIS 542185	57	72	0.2	0.11	23
ISIS 542186	62	84	0.2	0.12	24
ISIS 545431	2622	1375	3.0	0.15	28
ISIS 545438	1710	1000	0.3	0.14	26
ISIS 545439	70	117	0.2	0.12	28
ISIS 545447	141	108	0.3	0.13	26

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratones se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 103. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 103

Marcadores hematológicos en plasma de ratones CD1 en la semana 6					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	40	12	7	6	1210
ISIS 542109	47	13	9	16	1244
ISIS 542112	50	13	8	7	1065
ISIS 542118	42	12	8	8	1120
ISIS 542122	37	11	7	7	1064
ISIS 542125	42	13	8	7	1063
ISIS 542126	34	10	7	9	1477
ISIS 542127	41	12	7	7	1144
ISIS 542128	40	12	7	6	1196
ISIS 542145	42	12	8	8	1305
ISIS 542146	45	13	8	7	1310
ISIS 542149	33	10	6	12	903
ISIS 542150	27	7	5	18	1202
ISIS 542153	46	13	8	5	1130
ISIS 542157	44	12	9	6	791
ISIS 542185	45	13	8	3	1031
ISIS 542186	44	12	8	6	985
ISIS 545431	28	7	6	13	2609
ISIS 545438	40	11	8	8	1302
ISIS 545439	48	13	9	4	857
ISIS 545447	45	13	9	9	964

Ejemplo 21: Tolerabilidad de los gapmers MOE dirigidos a GHR humana en ratas Sprague-Dawley

Las ratas Sprague-Dawley son un modelo multipropósito usado para evaluaciones de seguridad y eficacia. Las ratas se trataron con oligonucleótidos antisentido ISIS de los estudios descritos en los ejemplos anteriores y se evaluaron para cambios en los niveles de varios marcadores de química del plasma.

Tratamiento

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron por vía subcutánea dos veces por semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis semanal de 100 mg/kg). Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron ratas y se extrajeron órganos y plasma para su análisis posterior.

Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT (alanina transaminasa) y AST (aspartato transaminasa) y los resultados se presentan en la Tabla 104 expresada en UI/l. También se midieron los niveles en plasma de bilirrubina usando el mismo analizador químico clínico y los resultados también se presentan en la Tabla 104 expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de la función hepática fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 104

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley			
	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	Bilirrubina (mg/dl)
PBS	69	90	0.15
ISIS 523723	79	123	0.12
ISIS 523789	71	105	0.15
ISIS 532254	67	97	0.14
ISIS 532401	61	77	0.12
ISIS 532420	102	127	0.17
ISIS 533178	157	219	0.34
ISIS 533234	71	90	0.11
ISIS 533932	58	81	0.12
ISIS 539376	75	101	0.14
ISIS 539380	86	128	0.16
ISIS 539383	64	94	0.14
ISIS 539399	52	95	0.14
ISIS 539404	88	118	0.13
ISIS 539416	63	104	0.14
ISIS 539432	63	90	0.13
ISIS 539433	69	92	0.13

Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles en plasma de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 105, expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 105

Marcadores de la función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley		
	BUN	Creatinina
PBS	24	0.32
ISIS 523723	20	0.39
ISIS 523789	19	0.37
ISIS 532254	21	0.43
ISIS 532401	17	0.36
ISIS 532420	20	0.31
ISIS 533178	20	0.43
ISIS 533234	22	0.41
ISIS 533932	19	0.43
ISIS 539376	19	0.36
ISIS 539380	18	0.35
ISIS 539383	19	0.35
ISIS 539399	18	0.39
ISIS 539404	23	0.39
ISIS 539416	17	0.39
ISIS 539432	20	0.39
ISIS 539433	20	0.34

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratas se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 106. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 106

Marcadores hematológicos en ratas Sprague-Dawley					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
PBS	46	15	8	11	1078
ISIS 523723	38	12	7	19	626
ISIS 523789	38	12	8	12	702
ISIS 532254	36	12	7	11	547
ISIS 532401	42	14	8	12	858
ISIS 532420	37	12	7	17	542
ISIS 533178	37	12	7	15	1117
ISIS 533234	38	12	7	8	657
ISIS 533932	40	13	7	9	999
ISIS 539376	43	14	9	8	910
ISIS 539380	33	11	5	6	330

(continuación)

Marcadores hematológicos en ratas Sprague-Dawley					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
ISIS 539383	39	13	7	10	832
ISIS 539399	37	11	7	4	603
ISIS 539404	37	12	7	6	639
ISIS 539416	33	11	6	9	601
ISIS 539432	44	14	9	10	810
ISIS 539433	38	12	7	9	742

Pesos de órganos

Se midieron los pesos del hígado, el corazón, el bazo y los riñones al final del estudio, y se presentan en la Tabla 107. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

Tabla 107

Pesos de los órganos (g)				
	Corazón	Hígado	Bazo	Riñón
PBS	0.35	3.6	0.2	0.8
ISIS 523723	0.31	4.9	0.7	0.8
ISIS 523789	0.34	4.8	0.6	0.8
ISIS 532254	0.32	5.0	0.6	1.0
ISIS 532401	0.32	3.8	0.4	0.8
ISIS 532420	0.29	4.6	0.7	1.0
ISIS 533178	0.34	5.2	0.7	0.9
ISIS 533234	0.30	4.4	0.6	1.0
ISIS 533932	0.31	3.9	0.5	0.9
ISIS 539376	0.29	4.4	0.4	0.8
ISIS 539380	0.31	6.3	1.6	1.2
ISIS 539383	0.31	4.5	0.6	1.0
ISIS 539399	0.31	4.5	0.8	1.0
ISIS 539404	0.34	4.9	0.6	1.0
ISIS 539416	0.32	4.7	0.7	0.9
ISIS 539432	0.30	3.8	0.4	0.8
ISIS 539433	0.28	4.1	0.7	1.0

Ejemplo 22: tolerabilidad de gapmers de desoxi, MOE y cEt dirigidos a GHR humana en ratas Sprague-Dawley

Se trataron ratas Sprague-Dawley con oligonucleótidos antisentido ISIS de los estudios descritos en los Ejemplos anteriores y se evaluaron para cambios en los niveles de varios marcadores de química del plasma.

Tratamiento

Se mantuvieron ratas Sprague-Dawley macho en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y se alimentaron ad libitum con comida para ratas normal de Purina, dieta 5001. A grupos de 4 ratas Sprague-Dawley se les inyectaron por vía subcutánea una vez por semana durante 6 semanas 50 mg/kg de oligonucleótido ISIS (dosis semanal de 50

mg/kg). A dos grupos de ratas se les inyectó por vía subcutánea una vez a la semana durante 6 semanas PBS. Cuarenta y ocho horas después de la última dosis, se sacrificaron ratas y se extrajeron órganos y plasma para su análisis posterior.

5 Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se midieron los niveles en plasma de transaminasas usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Se midieron los niveles en plasma de ALT y AST y los resultados se presentan en la Tabla 108 expresada en UI/l. Los niveles en plasma de bilirrubina también se midieron usando el mismo analizador químico clínico y los resultados también se presentan en la Tabla 108 expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquier marcador de la función hepática fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 108

Marcadores de la función hepática en ratas Sprague-Dawley			
	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	Bilirrubina (mg/dl)
Grupo PBS 1	34	56	0.08
Grupo PBS 2	37	54	0.09
ISIS 541881	53	77	0.12
ISIS 542051	61	96	0.09
ISIS 542101	64	214	0.10
ISIS 542112	46	72	0.10
ISIS 542118	42	60	0.08
ISIS 542125	39	67	0.10
ISIS 542127	56	75	0.12
ISIS 542128	45	71	0.12
ISIS 542153	44	69	0.11
ISIS 542185	44	93	0.09
ISIS 542186	51	107	0.12
ISIS 545439	41	73	0.10
ISIS 545447	103	114	0.10
ISIS 541262	106	133	0.12
ISIS 541742	56	102	0.11
ISIS 541767	53	69	0.09
ISIS 541875	70	133	0.08

Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se midieron los niveles en plasma de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina usando un analizador químico clínico automatizado (Hitachi Olympus AU400e, Melville, NY). Los resultados se presentan en la Tabla 109, expresada en mg/dl. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores de función renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 109

Marcadores de la función renal (mg/dl) en ratas Sprague-Dawley		
	BUN	Creatinina
Grupo PBS 1	16	0.2
Grupo PBS 2	15	0.2
ISIS 541881	22	0.3
ISIS 542051	18	0.2
ISIS 542101	22	0.3
ISIS 542112	18	0.2
ISIS 542118	18	0.3
ISIS 542125	18	0.3
ISIS 542127	19	0.3
ISIS 542128	18	0.3
ISIS 542153	17	0.3
ISIS 542185	19	0.3
ISIS 542186	19	0.3
ISIS 545439	16	0.2
ISIS 545447	16	0.2
ISIS 541262	21	0.4
ISIS 541742	19	0.2
ISIS 541767	15	0.2
ISIS 541875	16	0.2

Ensayos hematológicos

La sangre obtenida de todos los grupos de ratas se envió a Antech Diagnostics para realizar mediciones y análisis de hematocrito (HCT), así como mediciones de las varias células sanguíneas, como WBC, RBC y el contenido total de hemoglobina. Los resultados se presentan en la Tabla 110. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cambios en los niveles de cualquiera de los marcadores hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron en estudios posteriores.

Tabla 110

Marcadores hematológicos en ratas Sprague-Dawley					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
Grupo PBS 1	43	14	7	7	775
Grupo PBS 2	49	15	8	8	1065
ISIS 541881	41	13	8	6	553
ISIS 542051	39	13	7	9	564
ISIS 542101	37	12	7	15	603
ISIS 542112	45	14	8	10	587
ISIS 542118	47	15	8	7	817
ISIS 542125	41	13	7	7	909
ISIS 542127	44	14	8	10	872

(continuación)

Marcadores hematológicos en ratas Sprague-Dawley					
	HCT (%)	Hemoglobina (g/dl)	RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	Plaquetas ($10^3/\mu\text{l}$)
ISIS 542128	44	14	8	7	679
ISIS 542153	48	15	8	7	519
ISIS 542185	44	14	8	9	453
ISIS 542186	44	14	8	12	433
ISIS 545439	40	12	7	11	733
ISIS 545447	43	13	8	9	843
ISIS 541262	46	14	8	17	881
ISIS 541742	47	15	8	10	813
ISIS 541767	53	16	9	9	860
ISIS 541875	42	13	7	9	840

Pesos de órganos

Al final del estudio se midieron los pesos del hígado, el corazón, el bazo y los riñones, y se presentan en la Tabla 111. Los oligonucleótidos ISIS que provocaron cualquier cambio en el peso de los órganos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido se excluyeron de otros estudios.

Tabla 111

Pesos de los órganos (g)				
	Corazón	Hígado	Bazo	Riñón
Grupo PBS 1	0.4	3.7	0.2	0.9
Grupo PBS 2	0.3	3.2	0.2	0.7
ISIS 541881	0.4	3.4	0.4	0.9
ISIS 542051	0.4	3.8	0.4	1.0
ISIS 542101	0.3	4.2	0.6	1.1
ISIS 542112	0.3	3.7	0.4	0.8
ISIS 542118	0.4	3.6	0.2	0.8
ISIS 542125	0.4	3.7	0.3	1.1
ISIS 542127	0.3	4.2	0.3	0.8
ISIS 542128	0.3	3.5	0.3	0.8
ISIS 542153	0.3	3.5	0.3	0.8
ISIS 542185	0.4	3.8	0.4	0.9
ISIS 542186	0.3	3.8	0.6	0.9
ISIS 545439	0.4	4.1	0.3	0.9
ISIS 545447	0.4	3.4	0.3	1.1
ISIS 541262	0.3	3.4	0.3	2.0
ISIS 541742	0.3	3.8	0.3	0.8
ISIS 541767	0.3	3.4	0.2	0.8
ISIS 541875	0.3	5.2	0.4	1.0

Ejemplo 23: Efecto de oligonucleótidos antisentido ISIS dirigidos a GHR humana en monos cynomolgus

Los monos cynomolgus fueron tratados con oligonucleótidos antisentido ISIS seleccionados de los estudios descritos en los ejemplos anteriores. Se evaluaron la eficacia y tolerabilidad de los oligonucleótidos antisentido, así como su perfil farmacocinético en el hígado y los riñones.

En el momento en que se acometió este estudio, la secuencia genómica del mono cynomolgus no estaba disponible en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI); por lo tanto, no se pudo confirmar la reactividad cruzada con la secuencia del gen del mono cynomolgus. En cambio, las secuencias de los oligonucleótidos antisentido ISIS usados en los monos cynomolgus se compararon con una secuencia de mono rhesus por homología. Se espera que los oligonucleótidos ISIS con homología con la secuencia del mono rhesus sean también completamente reactivos con la secuencia del mono cynomolgus. Los oligonucleótidos antisentido humanos probados tienen reactividad cruzada con la secuencia genómica de rhesus (Nº de registro GENBANK NW_001120958.1 truncado de los nucleótidos 4410000 a 4720000, designada en la presente como SEQ ID NO: 2296). Cuanto mayor sea la complementariedad entre el oligonucleótido humano y la secuencia del mono rhesus, más probable será que el oligonucleótido humano pueda reaccionar de forma cruzada con la secuencia del mono rhesus. Los sitios de inicio y parada de cada oligonucleótido para la SEQ ID NO: 2296 se presentan en la Tabla 112. El "sitio de inicio" indica el nucleótido más 5' al que se dirige el gapmer en la secuencia del gen del mono rhesus.

Tabla 112

Oligonucleótidos antisentido complementarios con la secuencia genómica de GHR de mono rhesus (SEQ ID NO: 2296)				
Nº ISIS	Sitio de inicio objetivo	Sitio de parada objetivo	Química	SEQ ID NO
523723	149071	149090	5-10-5 MOE	918
532254	64701	64720	5-10-5 MOE	479
532401	147560	147579	5-10-5 MOE	703
541767	152700	152715	Desoxi, MOE y cEt	1800
541875	210099	210114	Desoxi, MOE y cEt	1904
542112	146650	146665	Desoxi, MOE y cEt	2122
542118	149074	149089	Desoxi, MOE y cEt	2127
542185	245782	245797	Desoxi, MOE y cEt	2194

Estudio 1

Antes del estudio, los monos se mantuvieron en cuarentena durante la cual los animales se observaron diariamente para la salud general. Los monos tenían 2-4 años y pesaban entre 2 y 4 kg. Se inyectó a cada uno de nueve grupos de 5 monos cynomolgus macho asignados aleatoriamente, por vía subcutánea oligonucleótido ISIS o PBS usando una aguja de dosificación de acero inoxidable y una jeringuilla de tamaño apropiado en la región intracapsular y el muslo externo de los monos. Los monos fueron dosificados tres veces (días 1, 4 y 7) durante la primera semana, y luego una vez por semana durante 12 semanas con 40 mg/kg de oligonucleótido ISIS. A un grupo de control de 5 monos cynomolgus se le inyectó PBS de manera similar y sirvió como grupo de control.

Durante el período de estudio, los monos fueron observados dos veces al día en busca de signos de enfermedad o angustia. Cualquier animal que experimentó más que dolor o angustia momentánea o leve debido al tratamiento, lesión o enfermedad fue tratado por el personal veterinario con analgésicos o agentes aprobados para aliviar el dolor después de consultar con el Director del Estudio. Se identificó cualquier animal con mala salud o en una posible condición moribunda para una monitorización adicional y posible eutanasia. La eutanasia programada de los animales se realizó el día 86 por desangrado después de anestesia inducida por ketamina/xilazina y la administración de pentobarbital de sodio. Los protocolos descritos en el Ejemplo fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales (IACUC).

Reducción del Objetivo**Análisis de ARN**

En el día 86, se extrajo ARN del hígado, tejido adiposo blanco (WAT) y riñón para el análisis por PCR en tiempo real de la medición de la expresión de ARNm de GHR. Los resultados se presentan como porcentaje de inhibición del ARNm, con respecto al control de PBS, normalizado con RIBOGREEN®. 'n.d.' indica que no se midieron los datos para ese oligonucleótido particular. Como se muestra en la Tabla 113, el tratamiento con oligonucleótidos antisentido ISIS dio como resultado una reducción significativa del ARNm de GHR en comparación

con el control PBS. Específicamente, el tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado una reducción significativa de la expresión de ARNm en todos los tejidos.

La expresión del gen sensible a la hormona del crecimiento, ALS, también se midió en hígado, riñón y tejido adiposo. El tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado una reducción de la expresión de ARN de ALS en el hígado en un $44 \pm 9\%$, correlacionando con los niveles de GHR. No se observó reducción en el tejido adiposo. También se midió la expresión de IGF1 en el hígado. El tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado una reducción de la expresión de ARN de IGF1 en el hígado en un $71 \pm 10\%$, correlacionando con los niveles de GHR.

Tabla 113

Porcentaje de inhibición de ARNm de GHR en el hígado de mono cynomolgus con respecto al control de PBS			
Nº ISIS	Hígado	Riñón	WAT
532401	60	47	59
532254	63	65	n.d.
523723	38	0	n.d.
542112	61	60	36
542118	0	22	27
542185	66	53	n.d.
541767	0	14	n.d.
541875	34	77	n.d.

Análisis de proteínas

Se recogió aproximadamente 1 ml de sangre de todos los animales disponibles en el día 85 y se colocó en tubos que contenían la sal de potasio de EDTA. Los tubos se centrifugaron (3000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente) para obtener plasma. Se midieron los niveles en plasma de IGF-1 y GH en el plasma. Los resultados se presentan en la Tabla 114. Los resultados indican que el tratamiento con oligonucleótidos ISIS dio como resultado niveles reducidos de proteína IGF-1.

También se presentan en la Tabla 115 los niveles en plasma de IGF1 después del tratamiento con ISIS 532401 y demuestran el efecto de la inhibición antisentido de GHR en la reducción de los niveles de IGF1 en el día 7 y el día 85.

Tabla 114

Niveles de proteína en plasma en mono cynomolgus		
	IGF-1 (% de valor de referencia)	GH (ng/ml)
PBS	121	19
532401	57	39
532254	51	26
523723	77	16
542112	46	48
542118	97	6
542185	59	32
541767	101	22
541875	45	47

Tabla 115

Niveles de IGF1 en plasma IGF1 en mono cynomolgus		
	Día 7	Día 85
PBS	458	643
ISIS 532401	326	263

Estudios de tolerabilidad

Mediciones de peso corporal y de órganos

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la salud general de los animales, se midieron los pesos corporales y de los órganos. Los pesos corporales se midieron el día 84 y se presentan en la Tabla 115. Los pesos de los órganos se midieron el día 86 y los datos también se presentan en la Tabla 115. Los resultados indican que el efecto del tratamiento con oligonucleótidos antisentido sobre el peso corporal y de los órganos estuvo dentro del intervalo esperado para oligonucleótidos antisentido. Específicamente, el tratamiento con ISIS 532401 fue bien tolerado en términos del peso corporal y de los órganos de los monos.

Tabla 115

Pesos del cuerpo y de los órganos finales en mono cynomolgus				
	Peso corporal (kg)	Bazo (g)	Riñón (g)	Hígado (g)
PBS	2.7	2.8	12.3	56.7
532401	2.6	4.0	11.5	58.5
532254	2.6	4.8	15.4	69.5
523723	2.8	3.1	14.8	69.4
542112	2.6	3.5	13.6	60.0
542118	2.7	2.7	11.9	58.6
542185	2.6	5.5	17.2	68.5
541767	2.8	5.1	11.7	65.1
541875	2.8	5.5	13.2	55.0

Función hepática

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función hepática, se recogieron muestras de sangre de todos los grupos de estudio. Las muestras de sangre se recogieron mediante venopunción femoral, 48 horas después de la dosificación. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la extracción de sangre. La sangre se recogió en tubos que contenían anticoagulante K₂-EDTA, que se centrifugaron para obtener plasma. Se midieron los niveles de varios marcadores de la función hepática usando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón). Se midieron los niveles en plasma de ALT y AST y bilirrubina. Las siguientes tablas presentan los resultados para los niveles de ALT y AST en varios puntos temporales. Los resultados indican que los oligonucleótidos antisentido no tuvieron efecto sobre la función hepática fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido. Específicamente, el tratamiento con ISIS 532401 fue bien tolerado en términos de la función hepática en monos.

Tabla 116

Niveles de ALT (IU/l) en mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
PBS	46	37	40
ISIS 532401	63	59	88
ISIS 532254	62	46	56
ISIS 523723	50	77	86

(continuación)

Niveles de ALT (IU/l) en mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
ISIS 542112	53	54	60
ISIS 542118	38	41	52
ISIS 542185	58	59	91
ISIS 541767	56	45	46
ISIS 541875	70	54	71

Tabla 117

Niveles de AST (IU/l) en mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
PBS	58	40	45
ISIS 532401	47	48	61
ISIS 532254	71	81	98
ISIS 523723	56	61	73
ISIS 542112	58	65	89
ISIS 542118	41	40	46
ISIS 542185	61	63	98
ISIS 541767	52	39	63
ISIS 541875	70	50	70

Función renal

Para evaluar el efecto de los oligonucleótidos ISIS sobre la función renal, se recogieron muestras de sangre de todos los grupos de estudio. Las muestras de sangre se recogieron mediante venopunción femoral, 48 horas después de la dosificación. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la extracción de sangre. La sangre se recogió en tubos que contenían anticoagulante K₂-EDTA, que se centrifugaron para obtener plasma. Los niveles de BUN y creatinina se midieron usando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón). Las siguientes tablas presentan los resultados de los niveles de BUN y creatinina en varios puntos temporales.

Los datos de la química del plasma indican que la mayoría de los oligonucleótidos ISIS no tuvieron ningún efecto sobre la función renal fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido. Específicamente, el tratamiento con ISIS 532401 fue bien tolerado en términos de la función renal de los monos.

Tabla 118

Niveles de BUN (mg/dl) en mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
PBS	29	26	26
ISIS 532401	27	27	27
ISIS 532254	21	22	25
ISIS 523723	25	24	22
ISIS 542112	26	24	24
ISIS 542118	29	27	29
ISIS 542185	22	21	22

(continuación)

Niveles de BUN (mg/dl) en mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
ISIS 541767	29	24	24
ISIS 541875	29	24	21

Tabla 119

Niveles de creatinina (mg/dl) en mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
PBS	0.9	0.8	0.9
ISIS 532401	1.1	1.0	1.1
ISIS 532254	1.0	1.0	1.0
ISIS 523723	1.0	1.0	1.0
ISIS 542112	1.0	0.9	1.0
ISIS 542118	0.9	0.9	0.9
ISIS 542185	1.0	0.9	0.9
ISIS 541767	1.1	0.9	0.9
ISIS 541875	1.2	1.1	1.1

Hematología

Para evaluar cualquier efecto de los oligonucleótidos ISIS en monos cynomolgus sobre los parámetros hematológicos, se recogieron muestras de sangre de aproximadamente 1,3 ml de sangre de cada uno de los animales de estudio disponibles en tubos que contenían K₂-EDTA. Las muestras se analizaron para el recuento de glóbulos rojos (RBC), recuento de glóbulos blancos (WBC), recuentos de glóbulos blancos individuales, como de monocitos, neutrófilos, linfocitos, así como para recuento de plaquetas, contenido de hemoglobina y hematocrito, usando un analizador de hematología ADVIA120 (Bayer, USA.). La siguiente tabla presenta los resultados para el recuento de plaquetas en varios puntos temporales, 'n/a' indica que los datos para ese punto temporal no están disponibles.

Los datos indican que los oligonucleótidos no provocaron ningún cambio en los parámetros hematológicos fuera del intervalo esperado para los oligonucleótidos antisentido a esta dosis. Específicamente, el tratamiento con ISIS 532401 fue bien tolerado en términos de los parámetros hematológicos de los monos.

Tabla 120

Recuento de plaquetas (x 10 ³ /μl) en monos cynomolgus			
	Día 30	Día 58	Día 86
PBS	538	464	403
ISIS 532401	493	465	395
ISIS 532254	334	328	306
ISIS 523723	352	304	268
ISIS 542112	454	430	368
ISIS 542118	418	379	377
ISIS 542185	370	303	296
ISIS 541767	435	326	325
ISIS 541875	437	359	n/a

Análisis de la proteína C reactiva y del nivel de complemento C3

Para evaluar cualquier efecto inflamatorio de los oligonucleótidos ISIS en monos cynomolgus, se tomaron muestras de sangre para análisis. Los monos se mantuvieron en ayunas durante la noche antes de la extracción de sangre. Se recogieron aproximadamente 1,5 ml de sangre de cada animal y se colocaron en tubos sin anticoagulante para la separación del suero. Los tubos se mantuvieron a temperatura ambiente durante un mínimo de 90 minutos y luego se centrifugaron a 3.000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente para obtener suero. La proteína C reactiva (PCR), que se sintetiza en el hígado y que sirve como marcador de inflamación, se midió utilizando un analizador químico Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Japón). Las tablas siguientes presentan los resultados para los niveles de CRP y C3 en varios puntos temporales. Los resultados indican que el tratamiento con ISIS 532401 no provocó inflamación en los monos.

Tabla 121

CRP (mg/l) in mono cynomolgus			
	Día 16	Día 44	Día 86
PBS	3.8	2.0	2.0
ISIS 532401	2.3	1.7	1.9
ISIS 532254	2.1	3.2	5.9
ISIS 523723	6.1	4.5	4.4
ISIS 542112	2.5	2.7	2.7
ISIS 542118	2.2	2.8	2.1
ISIS 542185	2.3	11.9	9.3
ISIS 541767	1.9	1.5	6.7
ISIS 541875	4.9	3.5	8.4

Tabla 122

C3 (mg/dl) en día 85 (24 horas después de dosificación) en monos cynomolgus	
	C3
PBS	114
ISIS 532401	96
ISIS 532254	100
ISIS 523723	87
ISIS 542112	100
ISIS 542118	110
ISIS 542185	98
ISIS 541767	99
ISIS 541875	81

Medición de la concentración de oligonucleótidos.

Se midió la concentración del oligonucleótido de longitud completa en el hígado y el riñón de los monos. El método usado es una modificación de los métodos publicados anteriormente (Leeds et al., 1996; Geary et al., 1999) que consisten de una extracción con fenol-cloroformo (líquido-líquido) seguida de una extracción en fase sólida. Antes de la extracción se añadió un estándar interno (ISIS 355868, un oligonucleótido de fosforotioato modificado con 2'-O-metoxietilo de 27 mer, GCGTTTGCTCTTCTTCTTGCGTTTTT, designado en la presente como SEQ ID NO: 2300). Las concentraciones de muestras de tejidos se calcularon usando curvas de calibración, con un límite inferior de cuantificación (LLOQ) de aproximadamente 1,14 µg/g. Las vidas medias se calcularon usando el software WinNonlin (PHARSIGHT).

Los resultados se presentan en la Tabla 123, expresados como µg/g de tejido, así como la proporción de

concentración en riñón frente al hígado.

Tabla 123

Concentración de oligonucleótidos en el hígado y el riñón de mono cynomolgus				
	Química	Hígado	Riñón	proporción
ISIS 532401	5-10-5 MOE	725	2154	3.0
ISIS 532254	5-10-5 MOE	911	4467	4.9
ISIS 523723	5-10-5 MOE	657	3093	4.7
ISIS 542112	3-10-3cEt/MOE	491	2863	5.8
ISIS 542118	3-10-3cEt/MOE	429	1222	2.8
ISIS 542185	3-10-3cEt/MOE	432	3126	7.2
ISIS 541767	3-10-3cEt/MOE	280	994	3.5
ISIS 541875	3-10-3cEt/MOE	766	3892	5.1

Estudio 2

Se inyectó a un grupo de 5 monos cynomolgus macho asignados al azar por vía subcutánea ISIS 532401 o PBS usando una aguja de dosificación de acero inoxidable y una jeringuilla de tamaño apropiado en la región intracapsular y el muslo externo de los monos. Los monos recibieron una dosis de carga por semana (días 1, 3, 5 y 7) durante la primera semana, y luego una vez por semana (días 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84 y 91) con 40 mg/kg de ISIS 532401. A un grupo de control de 5 monos cynomolgus se le inyectó PBS de manera similar y sirvió como grupo de control.

Reducción de objetivo

Análisis de ARN

En el día 93, se extrajo ARN del hígado, tejido adiposo blanco (WAT) y músculo para el análisis por PCR en tiempo real de la medición de la expresión de ARNm de GHR. El tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado una reducción significativa del ARNm de GHR en el hígado y el tejido adiposo blanco.

También se midió en el hígado la expresión del gen sensible a la hormona del crecimiento, ALS. El tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado una reducción de la expresión de ARN de ALS en el hígado en un 38%, correlacionando con los niveles de GHR. 'n.d.' indica que los niveles no se comprobaron en ese tejido en particular. También se midió la expresión de IGF1 en el hígado, los músculos y los tejidos grasos. El tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado una reducción de la expresión de ARN IGF1 en el hígado y en el WAT, correlacionando con los niveles de GHR.

Tabla 124

Efecto del tratamiento con ISIS 532401 sobre niveles de ARNm (% de inhibición en comparación con el control de PBS) en el mono cynomolgus			
	Hígado	WAT	Músculo
GHR	64	75	21
ALS	38	n.d.	n.d.
IGF1	73	56	35

Análisis de proteínas

Se midieron los niveles en plasma de IGF-1 y GH en el plasma. Los resultados se presentan en la tabla siguiente. Los resultados indican que el tratamiento con ISIS 532401 dio como resultado niveles reducidos de proteína IGF-1. No hubo aumento en los niveles de la hormona del crecimiento en plasma.

Tabla 125

Niveles de IGF1 en plasma (ng/ml) en el mono cynomolgus			
	Día 7	Día 49	Día 91
PBS	625	776	850
ISIS 532401	378	455	363

Tabla 126

Niveles de hormona de crecimiento en plasma (ng/ml) en el mono cynomolgus			
	Día 7	Día 49	Día 91
PBS	25	27	33
ISIS 532401	16	13	17

Ejemplo 24: Medición de la viscosidad de oligonucleótidos antisentido ISIS dirigidos a GHR humana

La viscosidad de oligonucleótidos antisentido seleccionados del estudio descrito en los ejemplos anteriores se midió con el objetivo de detectar oligonucleótidos antisentido que tienen una viscosidad de más de 40 cP. Los oligonucleótidos que tienen una viscosidad mayor que 40 cP serían demasiado viscosos para administrarse a cualquier sujeto.

Se pesaron oligonucleótidos ISIS (32-35 mg) en un vial de vidrio, se añadieron 120 µl de agua y el oligonucleótido antisentido se disolvió en solución calentando el vial a 50° C. Parte de la muestra precalentada (75 µl) se pipeteó a un micro-viscosímetro (Cambridge). La temperatura del micro-viscosímetro se ajustó a 25° C y se midió la viscosidad de la muestra. Otra parte de la muestra precalentada (20 µl) se pipeteó en 10 ml de agua para lectura UV a 260 nM a 85° C (instrumento Cary UV). Los resultados se presentan en la Tabla 127 e indican que todas las soluciones de oligonucleótidos antisentido son óptimas en su viscosidad bajo el criterio establecido anteriormente.

Tabla 127

Viscosidad de oligonucleótido antisentido of ISIS dirigido a GHR humana		
Nº ISIS.	Química	Viscosidad (cP)
523723	5-10-5 MOE	8
532254	5-10-5 MOE	22
532401	5-10-5 MOE	12
541767	Desoxi, MOE y cEt	13
541875	Desoxi, MOE y cEt	33
542112	Desoxi, MOE y cEt	10
542118	Desoxi, MOE y cEt	14
542185	Desoxi, MOE y cEt	17

Ejemplo 25: efecto de la inhibición antisentido de GHR en ratones

Para confirmar el efecto de la inhibición antisentido de GHR en el modelo de primates, se empleó un oligonucleótido ISIS dirigido a GHR murina para replicar el resultado en un modelo de ratón.

El ISIS 563223 (GAGACTTTTCCTTGACACA, designado en la presente como SEQ ID NO: 2301) es un oligonucleótido murino antisentido gapmer 5-10-5 MOE dirigido a GHR murino (Nº de registro GENBANK; NM_010284.2, designado en la presente como SEQ ID NO: 2302) al sitio de inicio objetivo 3230. Se inyectó a un grupo de ratones CD1 macho y hembra una dosis de carga (los días 1, 3, 5 y 7) en la primera semana y posteriormente una dosis semanal (los días 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84 y 91) con 40 mg/kg de ISIS 563223. A un grupo de ratones CD1 se le inyectó de manera similar PBS. Los ratones se sacrificaron 48 horas después de la última dosis, y los órganos y el plasma se recogieron para su análisis posterior.

Expresión de ARNm

Se midió la expresión de ARNm de hígado de GHR, GHBP, IGF1 y ALS. Los resultados se presentan en la Tabla 128. La inhibición antisentido de GHR dio como resultado la inhibición de los niveles de expresión de genes GHBP, IGF1 y ALS.

Tabla 128

Expresión de ARNm (% de inhibición) en hígado de ratones CD1		
	% (en ratones macho)	% (en ratones hembra)
GHR	98	96
GHBP	74	66
IGF1	60	48
ALS	84	74

Expresión de proteínas

Se midieron los niveles en plasma de IGF1 y la hormona del crecimiento. Los resultados se presentan en la Tabla 129. La inhibición antisentido de GHR dio como resultado una disminución en los niveles de IGF1 y no tuvo ningún efecto sobre los niveles de la hormona del crecimiento.

Tabla 129

Niveles de proteína de IGF1 (ng/ml) en hígado de ratones CD1		
	en ratones macho	en ratones hembra
PBS	949	1002
ISIS 563223	439	740

Tabla 130

Niveles de proteína de hormona de crecimiento (ng/ml) en hígado de ratones CD1		
	en ratones macho	en ratones hembra
PBS	3.3 ± 2.2	2.2 ± 1.3
ISIS 563223	5.6 ± 6.7	2.9 ± 1.7

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que consiste de 18 a 30 nucleósidos enlazados de longitud, en donde el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende una porción de por lo menos 18 nucleobases contiguas 100% complementarias con una porción de igual longitud de las nucleobases 153921-153940 de un ácido nucleico del receptor de la hormona de crecimiento que tiene la secuencia de nucleobases de la SEQ ID NO: 2, en donde la secuencia de nucleobases del oligonucleótido modificado es por lo menos un 90% complementaria a la SEQ ID NO: 2, en donde el compuesto reduce la cantidad o actividad del ácido nucleico del receptor de la hormona de crecimiento.
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el oligonucleótido modificado es un 100% complementario a la SEQ ID NO: 2.
3. El compuesto de cualquier reivindicación anterior, en donde el oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que comprende la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 703, opcionalmente en donde el oligonucleótido modificado consiste de 20 nucleósidos enlazados y tiene una secuencia de nucleobases que consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 703.
4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el oligonucleótido modificado comprende por lo menos un azúcar modificado y en donde el por lo menos un azúcar modificado comprende opcionalmente un grupo 2'-O-metoxietilo o es un azúcar bicíclico, como un azúcar bicíclico que comprende un grupo 4'-CH(CH₃)-O-2' o un azúcar bicíclico que comprende un grupo 4'-CH₂-O-2' o 4'-(CH₂)₂-O-2'.
5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el oligonucleótido modificado comprende por lo menos un enlace internucleosídico modificado y en donde el enlace internucleosídico modificado es opcionalmente un enlace internucleosídico de fosforotioato.
6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el oligonucleótido modificado comprende por lo menos una nucleobase modificada y en donde la nucleobase modificada es opcionalmente 5-metilcitosina.
7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el oligonucleótido modificado comprende:
 - un segmento de separación que consiste de desoxinucleósidos enlazados;
 - un segmento de ala 5' que consiste de nucleósidos enlazados; y
 - un segmento de ala 3' que consiste de nucleósidos enlazados;
 en donde el segmento de separación está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3' y en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar modificado.
8. El compuesto de cualquier reivindicación anterior, en donde el oligonucleótido modificado consiste de 20 nucleósidos enlazados que tienen una secuencia de nucleobases que consiste de la secuencia enumerada en la SEQ ID NO: 703, y en donde el oligonucleótido modificado comprende:
 - un segmento de separación que consiste de diez desoxinucleósidos enlazados;
 - un segmento de ala 5' que consiste de cinco nucleósidos enlazados; y
 - un segmento de ala 3' que consiste de cinco nucleósidos enlazados;
 en donde el segmento de separación está colocado entre el segmento de ala 5' y el segmento de ala 3'; en donde cada nucleósido de cada segmento de ala comprende un azúcar 2'-O-metoxietilo; en donde por lo menos un enlace internucleosídico es un enlace de fosforotioato; y en donde cada citosina es una 5-metilcitosina.
9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el compuesto es de cadena sencilla.
10. Una composición que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o sal del mismo y por lo menos uno de un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
11. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, o la composición de la reivindicación 10, para su uso en terapia.
12. El compuesto o composición para el uso de la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento en un humano, en donde la enfermedad asociada con un exceso de hormona de crecimiento es opcionalmente acromegalia.
13. El compuesto o composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el tratamiento de la acromegalia reduce los niveles de IGF-1.

14. El compuesto o composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-10, para su uso en un método para reducir los niveles del receptor de la hormona del crecimiento (GHR) en un humano, dicho método comprendiendo administrar al humano una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o composición, reduciendo de este modo los niveles de GHR en el humano, opcionalmente en donde el humano tiene una enfermedad asociada con un exceso de hormona del crecimiento, como la acromegalia.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65