

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 679**

21 Número de solicitud: 201190077

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68

(2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

16.06.2010

30 Prioridad:

17.06.2009 ES 200901439

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.02.2013

71 Solicitantes:

**PROGENIKA BIOPHARMA, S.A.
Parque Tecnológico de Bizkaia, Edif. 504
48160 Derio (Bizkaia) ES**

72 Inventor/es:

**SIMÓN BUELA, Laureano;
MARTÍNEZ MARTÍNEZ, Antonio;
TEJEDOR HERNÁNDEZ, Diego;
ARTIEDA OSEÑALDE, Marta;
BUXENS AZCOAGA, Amaya y
ARTETA GARCÍA, David**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

54 Título: **MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ATLÉTICO DE UN SUJETO.**

57 Resumen:

Método para la evaluación del comportamiento atlético de un sujeto.

La presente invención describe un método de predicción del potencial de un sujeto hacia deportes de potencia o de resistencia, basado en el genotipado de marcadores polimórficos de determinados genes asociados con eventos deportivos. Asimismo, también describe un ADN-chip que comprende sondas específicas para los polimorfismos a detectar y un kit con el cual se puede llevar a cabo el método de la invención. Dicho modelo predictivo se puede utilizar para personalizar los programas de entrenamiento de los deportistas.

ES 2 395 679 A1

DESCRIPCIÓN

Método para la evaluación del comportamiento atlético de un sujeto.

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se puede encuadrar en áreas emergentes para desarrollar la investigación en el campo del deporte y del comportamiento basado en una determinada combinación de variantes genéticas. En concreto, describe un método de predicción del potencial de un sujeto hacia deportes de potencia o de resistencia, basado en el genotipado de marcadores polimórficos de determinados genes asociados con eventos deportivos. El modelo predictivo se puede utilizar para personalizar los programas de entrenamiento de los deportistas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 El potencial deportivo es un rasgo complejo, poligénico y de carácter multifactorial que se caracteriza, además, por una combinación de las capacidades motoras y psicológicas y por unas aptitudes anatomo-fisiológicas que crean, en su conjunto, la posibilidad (potencial) de lograr altos resultados deportivos en un deporte concreto. Los datos existentes en la literatura sobre características asociadas a deportistas de élite se mueven mayoritariamente a nivel fisiológico.

15 El límite de cada individuo para llevar a cabo un tipo dado de ejercicio depende de la naturaleza del ejercicio y está influido por una variedad de factores, incluyendo la psicología, el ambiente y la genética. Los fenotipos de comportamiento físico para los que se sospecha una base genética incluyen la capacidad de resistencia, el comportamiento muscular y la actitud fisiológica para el entrenamiento. La inclusión de pruebas genéticas en los deportistas, permitiría identificar no solo sujetos con una fisiología y morfología óptimas para la práctica deportiva sino, además, sujetos con mayor capacidad para responder o adaptarse al entrenamiento. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la traducción de un genotipo ventajoso a un fenotipo de campeón está aún muy influido por el ambiente y por factores psicológicos y sociológicos.

20 La capacidad de los científicos deportivos de predecir los atletas dentro de un grupo de élite que se podrían convertir en deportistas de relevancia mundial está limitada, entre otras cosas, a una variación inter-individuo en la capacidad óptima del comportamiento atlético, una característica no sólo de la población general sino también de atletas entrenados (Bouchard C et al. 1993; Exerc. Sport Sci. Rev 20, 27-58). Los fenotipos de comportamiento físico para los que se ha concluido una base genética, incluyen, entre otros, genes relacionados con la hemodinámica de la respuesta al entrenamiento físico, la actividad física, el metabolismo lipídico y la distribución de la grasa corporal (Rankinen, T et al. 2006; Med Sci Sports Exerc 38, 1863-1888) y con la capacidad de respuesta vía defensas antioxidantes. Por tanto, es importante reconocer cómo la genética puede influir en la optimización del ejercicio, incluyendo el conocimiento de los genes involucrados en estos mecanismos.

25 Aunque se requiere un entrenamiento adecuado para explotar el potencial genético de un individuo, la complejidad subyace en cuantificar cuánto influye la genética en componentes específicos del estado físico y cómo ciertos componentes genéticos posibilitan que un sujeto dado responda mejor al programa de entrenamiento (Williams AG and Folland JP. 2008; J. Physiol 586: 113-121). Por tanto, mientras que un buen programa de entrenamiento puede mejorar la forma física de un sujeto, independientemente de su perfil genético, parece claro que los límites superiores para la capacidad de buena forma física están unidos a una dotación natural (heredada) (Myburgh K. H. 2003; Comparative Biochemistry and Physiology Part A 136 171-190). La magnitud final del potencial genético dependerá del balance entre estos límites superiores y el resto de los factores particulares no genéticos.

30 Actualmente, gracias a los conocimientos obtenidos del análisis del genoma humano, se conocen muchos ejemplos de alelos definidos por polimorfismos de único nucleótido o SNPs (del inglés "single nucleotide polymorphism") que pueden afectar al buen funcionamiento de un determinado sistema mientras que otros, al contrario, ejercen un efecto beneficioso. Es importante tener presente que muchos de esos genes interaccionan entre sí y, por esa razón, algunos efectos antagónicos suelen compensar mutuamente su expresión, lo que clínicamente se puede traducir en la supresión de un determinado signo o síntoma dentro del cuadro clínico. Asimismo, se pueden asociar ciertos polimorfismos con la mejor predisposición de un individuo para la práctica de determinadas actividades deportivas, por lo que el genotipado puede ser muy útil a la hora de personalizar, por ejemplo, una terapia o, en el caso deportivo, un entrenamiento personalizado.

35 Tradicionalmente, las maneras de estudiar el comportamiento atlético en deportistas de élite han consistido, entre otras, en:

- determinar el consumo de oxígeno: determinando el valor VO_2 máximo, que es la capacidad máxima del organismo para transportar/metabolizar el oxígeno por la sangre durante 1 minuto y se suele indicar por peso del deportista; y/o
- determinar el límite de lactato (que representa la intensidad de ejercicio en la que el ácido láctico comienza a acumularse en el torrente sanguíneo, lo que ocurre cuando se produce más rápido de lo

que se puede metabolizar): se trata de una medida útil para decidir la intensidad del ejercicio para el entrenamiento y carrera en deportes de resistencia.

Estas técnicas basadas en parámetros fisiológicos tienen el inconveniente de que los resultados no permiten el diseño de un entrenamiento personalizado para cada sujeto.

5 Por otro lado, recientemente se ha descrito un nuevo método de predicción del comportamiento atlético (WO 2004/024947), que consiste en evaluar el genotipo del gen ACTN3, que puede ser combinado con otros factores. Sin embargo, dicho método posee el inconveniente de estar basado en la detección de una variante directamente asociada a músculo esquelético y fuerza muscular (ACTN3).

10 Existe, por tanto, la necesidad de desarrollar un método alternativo que suponga una detección más amplia, tal como el método descrito en la invención, que tiene la ventaja de incluir en la detección la combinación de variantes asociadas a tres grupos funcionales: hemodinámica de la respuesta al entrenamiento, distribución de la grasa corporal y la capacidad de respuesta por la vía de defensas antioxidantes, lo que supone una detección más completa.

15 Asimismo, también existe la necesidad de desarrollar un marcador genético que permita identificar sujetos con mayor predisposición a deportes de resistencia. Hasta el momento no se había identificado el gen ADRB3 con deportes de resistencia y sorprendentemente, los inventores han identificado el polimorfismo W64R de dicho gen ADRB3 como relacionado con el comportamiento atlético de un sujeto y en concreto la presencia del alelo R64 está asociado con deportes de resistencia.

COMPENDIO DE LA INVENCION

20 La invención se enfrenta al problema de desarrollar un método alternativo para evaluar el comportamiento atlético de un sujeto. La solución proporcionada por los investigadores utiliza la presencia de determinados polimorfismos en genes asociados a deportes para determinar el comportamiento de un sujeto ante deportes de resistencia o potencia.

25 Los inventores han observado que la presencia o ausencia de dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia, o, alternatively, la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia, resulta relevante para evaluar el comportamiento atlético de un sujeto ante eventos deportivos; de forma más concreta, los investigadores han observado que la presencia de unos polimorfismos en, al menos, dos genes seleccionados entre los genes ILE6, NAT2 y NOS3, es especialmente relevante a la hora de evaluar el comportamiento atlético de un sujeto ante eventos deportivos, tal como se pone de manifiesto en el Ejemplo 1. Dicha observación permite desarrollar un método para evaluar eficientemente el comportamiento atlético de un sujeto ante deportes de resistencia o potencia, de manera que permite diseñar y adaptar un programa de entrenamiento óptimo para dicho sujeto.

Además, los investigadores han observado que la presencia o ausencia de uno o más SNPs en el gen ADRB3 de un sujeto permiten evaluar el comportamiento atlético de dicho sujeto ante deportes de resistencia, lo que posibilita diseñar y adaptar un programa de entrenamiento óptimo para dicho sujeto.

35 Por tanto, en un primer aspecto, la invención se relaciona con un método para evaluar el comportamiento atlético de un sujeto, que comprende:

- (i) determinar el genotipo o la presencia o ausencia de dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia; o, alternatively, determinar el genotipo o la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia; y
- (ii) evaluar si dicho sujeto tiene mayor predisposición a deportes de resistencia y/o de potencia, a la vista de la presencia o ausencia de dichos polimorfismos.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un ADN chip que comprende un soporte sobre el que están depositadas

- una pluralidad de sondas diferentes útiles para genotipar o para determinar dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia; o, alternatively,
- una pluralidad de sondas diferentes útiles para genotipar o para determinar al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia. ADN-chip que comprende un soporte sobre el que están depositadas una pluralidad de sondas diferentes útiles para detectar SNPs en dos o más genes seleccionados entre los genes NOS3, NAT2 y ILE6.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un kit que comprende un ADN chip según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13 y, opcionalmente, instrucciones para la puesta en práctica de un método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para evaluar el comportamiento de un sujeto ante deportes de resistencia, que comprende:

- (i) determinar la presencia o ausencia de al menos un SNP en el gen ADRB3 de dicho sujeto; y
- (ii) evaluar el comportamiento atlético de dicho sujeto a la vista de la presencia de dicho polimorfismo.

Aún en otro aspecto, la invención se relaciona con un ADN chip que comprende un soporte sobre el que están depositadas al menos las sondas útiles para detectar el SNP 190C en el gen ADRB3 y llevar a cabo el método de la invención B.

5 Aún en otro aspecto, la invención se relaciona con un kit que comprende el ADN chip de la invención y, opcionalmente, instrucciones para la puesta en práctica del método de la invención B.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA FIGURA

La Figura 1 muestra un gráfico con la contribución relativa de las variables incluidas en el modelo a la variabilidad de los datos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

10 Definiciones

El término "polimorfismo", tal y como se utiliza en la presente descripción, se refiere a una variación en la secuencia de nucleótidos de un ácido nucleico donde cada secuencia posible está presente en una proporción igual o superior a un 1% en una población. En un caso concreto, cuando dicha variación en la secuencia nucleotídica ocurre en un sólo nucleótido (A, C, T o G) se denomina "SNP" (del inglés "Single Nucleotide Polymorphism"). En la presente
15 invención, los términos polimorfismos y SNPs se usan indistintamente. Los polimorfismos se nombran en función de si el cambio de nucleótido se corresponde con un cambio en el aminoácido presente en la proteína o no. Así, cuando el cambio de nucleótido se corresponde con un cambio de aminoácido en la proteína, el polimorfismo se nombra de la siguiente manera "aa1-nn-aa2", donde "aa1" representa el aminoácido original, "nn" corresponde a la posición del aminoácido mutado, y "aa2" representa el aminoácido resultante de la mutación. Sin embargo, cuando el cambio de
20 nucleótido no corresponde con ningún cambio en el correspondiente aminoácido, entonces el polimorfismo se nombra indicando la posición del nucleótido que tiene la mutación y el cambio de nucleótido se indica de la siguiente manera "mm nt1>nt2", donde "mm" indica el número del nucleótido en el que se ha producido el cambio, "nt1" representa el nucleótido original y "nt2" el nucleótido cambiado.

25 Los términos "variante alélica" o "alelo" se usan indistintamente en la presente descripción y se refieren a un polimorfismo que ocurre en un mismo locus en una misma población.

El término "sujeto", tal como aquí se utiliza, incluye a cualquier mamífero. En una realización particular, dicho mamífero es un humano, un caballo, un perro, etc., preferentemente, un ser humano. En la presente invención se hace referencia a la posición del polimorfismo en el gen humano, no obstante, en caso de referirse a otra especie de mamífero, el polimorfismo sería el correspondiente en el gen ortólogo de dicha especie. Para identificar el polimorfismo
30 correspondiente en el gen correspondiente de un mamífero no humano, se puede llevar a cabo un alineamiento entre la secuencia del gen humano y la secuencia del gen de mamífero no humano; dicho alineamiento de secuencias de nucleótidos puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales, por ejemplo, mediante el empleo del programa BLAST [<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>].

35 La expresión "sujeto que practica regularmente un deporte", tal como aquí se utiliza se refiere a un sujeto que practica un deporte cualquiera que requiere un esfuerzo físico, tal como artes marciales, atletismo, baloncesto, fútbol, gimnasia, natación, tenis, etc., durante al menos 3 horas a la semana (Antonio Franco Estadella; "Deporte y sociedad", 1973, Salvat Editores. ISBN 84-345-7436-5).

40 El término "deportes de resistencia" incluye cualquier tipo de ejercicio que se practique a niveles moderados de intensidad durante periodos de tiempo extensos, con lo que se mantiene una frecuencia cardíaca elevada. En este tipo de ejercicios se metaboliza el glucógeno el primer lugar y, posteriormente, en ausencia de hidratos de carbono, se inicia el metabolismo lipídico. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de deportes de resistencia incluyen las carreras de medio fondo, tales como las carreras de 800 metros (m) o más, 1.000 m, 1.500 m o más, 5.000 m o más, etc., las carreras de fondo, tales como 10.000 m o más, maratón, etc., las carreras de ultrafondo, etc., el ciclismo, la natación, etc.

45 El término "deportes de potencia" tal como aquí se utiliza se refiere a aquellos deportes que se practican a niveles altos de intensidad durante cortos periodos de tiempo, con lo que únicamente se metabolizan los hidratos de carbono. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de deportes de potencia incluyen las carreras de velocidad, e.g., las carreras de 400 m, 200 m, 100 m, o menos, las carreras de vallas, los saltos (altura, longitud, pértiga, triple salto, etc.), tenis (dobles), levantamiento de pesas, etc.

50 El término "genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia" se utiliza en la presente memoria cuando se trata de genes que poseen una asociación con deportes de resistencia o bien de potencia, es decir que su expresión o la presencia de un polimorfismo en dicho gen son indicativas de deportes de resistencia o de potencia. A modo ilustrativo, pero no limitativo, dichos genes se pueden seleccionar del siguiente grupo: ACE, ACTN3, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGT, APOA1, APOB, APOE, DSG2, GNB3, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NPY, OGG1 y SOD2.

Métodos de la invenciónMétodo de la invención A

En un aspecto, la invención se relaciona con un método para evaluar el comportamiento atlético de un sujeto, que comprende:

- 5 (i) determinar el genotipo o la presencia o ausencia de dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia; o, alternativamente, determinar el genotipo o la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia; y
- 10 (ii) evaluar si dicho sujeto tiene mayor predisposición a deportes de resistencia y/o de potencia, a la vista de la presencia o ausencia de dichos polimorfismos.

La determinación del genotipo o la presencia o ausencia de dichos polimorfismos se puede llevar a cabo por métodos convencionales, tal como se describirá más adelante.

- 15 En una realización particular, el método de la invención A comprende determinar el genotipo o la presencia o ausencia de dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia. A modo ilustrativo, no limitativo, se puede determinar el genotipo o la presencia o ausencia de dos o más polimorfismos de un mismo gen, tal como los polimorfismos R64Q, 282 C>T, I114T, 481 C>T, R197K y/o K268R del gen NAT2 y evaluar la predisposición del sujeto a deportes de resistencia y/o de potencia, a la vista de la presencia o ausencia de dichos polimorfismos.

- 20 Alternativamente, en otra realización particular, el método de la invención A comprende determinar el genotipo o la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia. A modo ilustrativo, no limitativo, se puede determinar el genotipo o la presencia o ausencia del polimorfismo K268R del gen NAT2 y -174 G>C del gen IL6; no obstante, para la puesta en práctica de esta realización particular, se podría elegir cualquier par de genes relacionado con deportes de resistencia y/o potencia, tales como, por ejemplo, los genes ACE, ACTN3, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGT, APOA1, APOB, APOE, DSG2, GNB3, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NPY, OGG1 y SOD2. En una realización particular y preferida, el método de la invención A comprende determinar la presencia o ausencia en cada uno de al menos dos genes de dicho sujeto seleccionados entre los genes ILE6, NAT2 y NOS3 y evaluar si dicho sujeto posee mayor predisposición a deportes de resistencia y/o potencia, a la vista de la presencia o ausencia de dichos polimorfismos.

- 30 Por tanto, en una realización particular del método de la invención A, se proporciona un método para evaluar el comportamiento atlético de un sujeto, que comprende:

- (i) determinar la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes de dicho sujeto seleccionados entre los genes ILE6, NAT2 y NOS3; y
- (ii) evaluar si dicho sujeto tiene mayor predisposición a deportes de resistencia o de potencia, a la vista de la presencia de dichos polimorfismos.

- 35 La IL6 (interleuquina 6) es una citoquina pro-inflamatoria que se expresa en tejidos relacionados con el metabolismo energético, tales como el tejido adiposo, el músculo esquelético y el hipotálamo. Aunque prácticamente cualquier SNP en el gen IL6 relacionado con un comportamiento atlético de un sujeto ante deportes de resistencia o potencia puede ser analizado, en una realización particular, se analiza el SNP -174 C>G, que corresponde al número de acceso rs1800795 en la base de datos dbSNP. Dicho polimorfismo -174 C>G está asociado con un aumento de los niveles de expresión de IL6, que se ha asociado con un aumento del índice de masa corporal, con diabetes mellitus tipo 2, con dislipemia e hipertensión arterial (Halverstadt A et al. 2005; Biochim. Biophys. Acta 1734: 143-151). Ahora se ha observado que la presencia del nucleótido citosín-trifosfato (C) en la posición -174 del gen IL6 es indicativa de un mejor comportamiento atlético de un sujeto en deportes de resistencia, en el que el signo "-" indica la distancia corriente abajo a partir del primer codón de iniciación.

- 45 NAT2 (N-acetiltransferasa 2) es una enzima polimórfica que activa aminas aromáticas heterocíclicas y N-nitrosaminas carcinógenas, siendo una enzima importante en la detoxificación. Por tanto, su acción protectora es vital frente a estos carcinógenos. (Kinzig-Schippers M et al. 2005; Antimicrobial agents and chemotherapy 49: 1733-38). Aunque prácticamente cualquier SNP en el gen NAT2 relacionado con un comportamiento atlético de un sujeto ante deportes de resistencia o potencia puede ser analizado, en una realización particular, se analiza la existencia del SNP 803 A>G (K268R) en el gen NAT2, que corresponde al número de acceso rs1208 en la base de datos dbSNP. La presencia del nucleótido adenosín-trifosfato (A) en la posición 803 del gen NAT2 es indicativa de un mejor comportamiento atlético de un sujeto en deportes de resistencia. Asimismo, la ausencia del nucleótido guanidín-trifosfato (G) en la posición 803 del gen NAT2 es indicativa de un mejor comportamiento atlético de un sujeto en deportes de resistencia.

NOS3 (óxido nítrico sintasa 3) es una enzima que cataliza la síntesis de óxido nítrico (agente vasodilatador) y participa en el mantenimiento del tono vascular basal. En los atletas, el óxido nítrico es muy importante, ya que dentro de su función fisiológica está la de mediar en la dilatación de los vasos sanguíneos e incrementar la llegada de sangre a la masa muscular, lo que supone una mejor oxigenación y nutrición de los músculos, y, por lo tanto, el rendimiento así como la energía, la congestión muscular, la capacidad de recuperación y la expresión de fuerza se ven amplificadas bajo sus efectos (Data et al., 2003; Med. Sci. Sports Exerc. 35:1991–1997). Aunque prácticamente cualquier SNP en el gen NOS3 relacionado con un comportamiento atlético de un sujeto ante deportes de resistencia o potencia puede ser analizado, en una realización particular, se analiza la existencia de un SNP en la posición –786 del gen NOS3, tal como el SNP –786C>T, que corresponde al número de acceso rs2070744 en la base de datos dbSNP. La variante alélica -786C determina una menor expresión de NOS3, y, por tanto, menor producción de óxido nítrico. En una realización particular, en el método de la invención A se analiza la presencia de la variante alélica -786C ya que la presencia del nucleótido (C) en la posición -786 del gen NOS3 de un sujeto es indicativo de un mejor comportamiento de dicho sujeto en deportes de resistencia.

Aunque la invención se explicará en relación con dicha realización particular del método de la invención A, el experto en la materia entenderá que los fundamentos y las explicaciones serán aplicables a un método de la invención A en general.

Para la puesta en práctica del método de la invención A es preciso disponer de una muestra de un ácido nucleico (e.g., ADN, ARN, etc.) del sujeto a analizar. Dicha muestra de ácido nucleico puede obtenerse a partir de una muestra de dicho sujeto que contiene ácido nucleico de dicho sujeto; prácticamente cualquier muestra de un sujeto que contenga su ácido nucleico puede ser utilizada para la puesta en práctica de la invención; a modo ilustrativo, no limitativo, dicha muestra puede ser una muestra de sangre, saliva, plasma, suero, secreciones, tejidos, etc. El ácido nucleico contenido en dicha muestra del sujeto a estudiar puede ser extraído por métodos convencionales utilizando productos comerciales útiles para extraer dicho ácido nucleico (Sambrook, J., et al., 2001. Molecular cloning: a Laboratory Manual, 3rd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y., Vol. 1-3).

A partir de una muestra del ácido nucleico del sujeto se procede a determinar el genotipo o la presencia (o ausencia) de dos o más polimorfismos (e.g., SNPs) en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia; o alternativamente, determinar el genotipo o la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia. Para ello, en una realización particular, se amplifican las regiones de dichos genes diana (e.g., ILE6, NAT2, NOS3, etc.) que contienen los polimorfismos a identificar; dichas regiones (que contienen los polimorfismos a identificar) se pueden amplificar mediante el empleo de unos oligonucleótidos cebadores específicos, apropiados para amplificar las regiones de los genes diana que contienen los polimorfismos a identificar. Dichos oligonucleótidos cebadores se describen detalladamente más adelante, forman parte de la presente invención y constituyen un aspecto adicional de la misma. Si se desea, dichos productos de amplificación pueden ser marcados, opcionalmente, durante la reacción de amplificación, para obtener unos productos de amplificación marcados, que contienen los polimorfismos a identificar.

De forma más concreta, en una realización particular, las regiones de los genes que contienen los polimorfismos a identificar (regiones diana) se someten a una reacción de amplificación para obtener unos productos de amplificación que contienen los polimorfismos a analizar. Aunque puede utilizarse cualquier técnica o método que permita la amplificación de todas las secuencias nucleotídicas que contienen los polimorfismos a identificar, en una realización particular, dichas secuencias se amplifican mediante una amplificación multiplex, lo cual permite genotipar simultáneamente dichos polimorfismos en al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia, e.g., en al menos dos de dichos genes IL6, NAT2 y NOS3.

Para la realización de una amplificación multiplex se requiere el empleo de unos pares de oligonucleótidos cebadores o iniciadores capaces de amplificar dichas regiones diana que contienen los polimorfismos a identificar según se ha explicado anteriormente. Prácticamente puede utilizarse cualquier par de oligonucleótidos cebadores que permita la amplificación específica de dichas regiones diana, preferentemente, pares de oligonucleótidos cebadores que permitan dicha amplificación en el menor número posible de reacciones de amplificación. De este modo, utilizando los pares de oligonucleótidos cebadores y las condiciones apropiadas, se pueden amplificar todas las regiones diana necesarias para el genotipado de dichos polimorfismos a analizar con el mínimo número posible de reacciones. En una realización particular, dichos oligonucleótidos cebadores se seleccionan entre los oligonucleótidos cebadores identificados en la **Tabla 3** (Ejemplo 1).

Una vez que se han amplificado las regiones diana que contienen los polimorfismos a identificar, el método de la invención A comprende la etapa de determinar el genotipo o la presencia o ausencia de dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia; o, alternativamente, determinar el genotipo o la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia. A modo ilustrativo, tal como se ha comentado previamente, en una realización particular, el método de la invención A comprende la etapa de determinar la presencia o ausencia de un polimorfismo en en al menos dos genes del sujeto bajo estudio seleccionados del grupo formado por los genes IL6, NAT2 y NOS3. En una realización particular de la invención, dicha etapa de genotipado simultáneo se realiza mediante un análisis con ADN-chip, por ejemplo, utilizando un ADN-chip apropiado, tal como el ADN-chip proporcionado por esta invención (ADN-chip

de la invención), cuyas características se mencionan más adelante, es decir, mediante hibridación con sondas específicas para dichas variantes génicas humanas (**Tabla 2** – Ejemplo 1). Adicional, o alternativamente, dicho genotipado puede realizarse mediante secuenciación génica de dichos productos de amplificación, genotipado en micropartículas (*array* líquido) o análisis RFLP (Cutler et al. 2001. *Genome Research* 11: 1913-1925).

Así, si se desea, durante la reacción de amplificación, puede llevarse a cabo el marcaje de los productos de amplificación con el fin de poder detectar posteriormente la hibridación entre las sondas presentes en el ADN-chip de la invención, inmovilizadas en el soporte, y las regiones diana que contienen los polimorfismos a detectar. El marcaje de los productos de amplificación puede realizarse por métodos convencionales, por ejemplo, incorporando un nucleótido marcado durante la reacción de amplificación o bien utilizando cebadores marcados. Dicho marcaje puede ser directo, para lo cual pueden utilizarse fluoróforos, por ejemplo, Cy3, Cy5, fluoresceína, alexa, etc., enzimas, por ejemplo, fosfatasa alcalina, peroxidasa, etc., isótopos radiactivos, por ejemplo, ^{33}P , ^{125}I , etc., o cualquier otro marcador conocido por el experto en la materia. Alternativamente, dicho marcaje puede ser indirecto mediante el empleo de métodos químicos, enzimáticos, etc.; a modo ilustrativo, el producto de amplificación puede incorporar un miembro de un par de unión específica, por ejemplo, avidina o estreptavidina conjugada con un fluorocromo (marcador), y la sonda se une al otro miembro del par de unión específica, por ejemplo, biotina (indicador), efectuándose la lectura mediante fluorimetría, etc., o bien, el producto de amplificación puede incorporar un miembro de un par de unión específica, por ejemplo, un anticuerpo anti-digoxigenina conjugado con una enzima (marcador), y la sonda se une al otro miembro del par de unión específica, por ejemplo, digoxigenina (indicador), etc., transformándose el sustrato de la enzima en un producto luminiscente o fluorescente y, efectuándose la lectura mediante quimio-luminiscencia, fluorimetría, etc.

En una realización particular, dichos productos de amplificación se someten a una reacción de fragmentación para obtener unos productos de fragmentación que contienen los polimorfismos a identificar, y, en caso de que dichos productos de amplificación no hubieran sido marcados previamente en la etapa de amplificación, dichos productos de fragmentación que contienen los polimorfismos a identificar pueden ser marcados. Dicha reacción de fragmentación se lleva a cabo con el fin de aumentar la eficiencia de la hibridación posterior, obteniéndose de este modo unos productos de fragmentación que contienen los polimorfismos a identificar. La fragmentación de los productos de amplificación puede llevarse a cabo por cualquier método convencional, por ejemplo, poniendo en contacto los productos de amplificación con una ADNasa.

En caso de que los productos de amplificación no hubieran sido marcados previamente durante la reacción de amplificación, y en caso de que, tras el proceso de hibridación, no se lleve a cabo una reacción de amplificación o ligación directamente en el soporte, los productos resultantes de la reacción de fragmentación (productos de fragmentación) se someten a un marcaje bien directo utilizando, por ejemplo, fluoróforos, enzimas, isótopos radiactivos, etc. o bien indirecto utilizando, por ejemplo, pares de unión específica que incorporan fluoróforos, enzimas, etc., mediante métodos convencionales. En una realización particular, los productos de amplificación no han sido marcados previamente durante la reacción de amplificación, y los productos de fragmentación se someten a un marcaje directo o indirecto con uno o varios marcadores, por ejemplo, uno o varios fluoróforos, aunque pueden utilizarse otros marcadores conocidos por los expertos en la materia.

A continuación, los productos de fragmentación se ponen en contacto con unas sondas capaces de detectar las variantes génicas correspondientes bajo condiciones que permiten la hibridación entre dichos productos de fragmentación y dichas sondas. Dichas sondas están depositadas en un soporte sólido siguiendo una disposición predeterminada, constituyendo un ADN-chip (ADN-chip de la invención), cuyo diseño y desarrollo debe cumplir una serie de requisitos para poder ser utilizado en el método de la invención A en cuanto al diseño de las sondas, el número de sondas a depositar por polimorfismo génico a detectar, el número de réplicas de sondas a depositar, la distribución de las sondas sobre el soporte, etc. Las características propias de dicho ADN-chip de la invención y de dichas sondas se describen detalladamente más adelante.

La hibridación de los productos de fragmentación con las sondas capaces de detectar los polimorfismos correspondientes depositados en un soporte (ADN-chip de la invención) se lleva a cabo por métodos convencionales utilizando dispositivos convencionales. En una realización particular, la hibridación se lleva a cabo en una estación automática de hibridación. Para llevar a cabo la hibridación, los productos de fragmentación se ponen en contacto con dichas sondas (ADN-chip de la invención) bajo condiciones que permiten la hibridación entre dichos productos de fragmentación y dichas sondas. Unas condiciones de hibridación estables permiten establecer la hebra y la longitud apropiada de las sondas con el fin de maximizar la discriminación, tal como se menciona más adelante.

Finalizado el proceso de hibridación se procede a la captura de la imagen y a su cuantificación. Para ello, la imagen del ADN-chip hibridado y revelado es recogida con un dispositivo apropiado, por ejemplo, un escáner, procediéndose, a continuación, a cuantificar los valores absolutos de fluorescencia de cada sonda así como del ruido de fondo. Por tanto, en una realización particular, tras la hibridación, o tras las reacciones de amplificación o ligación post-hibridación, el ADN-chip hibridado y revelado se introduce en un escáner donde es sometido a un escaneado para cuantificar la intensidad del marcaje en los puntos donde se ha producido la hibridación. Aunque prácticamente cualquier escáner puede ser utilizado, en una realización particular, dicho escáner es un escáner de fluorescencia confocal. En este caso, el ADN-chip se introduce en el escáner y se escanea la señal emitida por el marcaje al ser excitado por un láser, cuantificándose la intensidad de los puntos en donde se ha producido la hibridación. En una

realización particular, dicho escáner es un escáner de luz blanca. Ejemplos ilustrativos, no limitativos, de escáneres que pueden ser utilizados según la presente invención son escáneres de Axon, Agilent, Perkin Elmer, etc.

A continuación, se procede al análisis de los datos y a su interpretación, lo que puede llevarse a cabo mediante el empleo de cualquier programa informático de genotipado apropiado, tal como el software de genotipado al que se hace referencia en el Ejemplo 1, en concreto en el apartado 1.4.5, y mediante el empleo del método de la invención A se puede determinar si un sujeto, por ejemplo, un sujeto que practica regularmente un deporte, tiene un comportamiento atlético más apropiado para realizar deportes de resistencia o de potencia, tal como se describe detalladamente más adelante.

Los inventores han desarrollado un método secuencial de procesamiento e interpretación de los datos experimentales generados por el ADN-chip de la invención que permite detectar cada uno de los polimorfismos con sensibilidad, especificidad y reproducibilidad, y calcular los valores de predisposición a deportes de resistencia o potencia. Los algoritmos y el programa informático desarrollado por los inventores permiten facilitar y automatizar la aplicación del método de la invención A.

La ejecución de los algoritmos y software informático desarrollado por los inventores para procesar secuencialmente e interpretar los datos experimentales generados por el DNA-chip de la invención comprende la realización de una serie de etapas para caracterizar cada una de las variantes génicas de interés, concretamente:

- en primer lugar, a los valores absolutos de intensidad de todas las sondas se les resta su propio ruido de fondo;
- a continuación, se agrupan las réplicas correspondientes a cada una de las 4 sondas utilizadas para caracterizar cada variante génica;
- el valor medio de intensidad para cada una de las 4 sondas se calcula usando la media acotada de las réplicas para eliminar los puntos aberrantes;
- conocidos los valores medios de intensidad para cada una de las sondas, se calcula el ratio 1 y el ratio 2, en donde:

Ratio 1 es la proporción de la media acotada de las intensidades de las 10, 8 ó 6 réplicas de la sonda 1 que detecta la variante génica A dividido por la media acotada de las 10, 8 ó 6 réplicas de la sonda 1 que detecta la variante génica A más la media acotada de las 10, 8 ó 6 réplicas de la sonda 2 que detecta la variante génica B y puede calcularse mediante la ecuación:

Intensidad media sonda 1

Ratio 1 = -----

Intensidad media sonda 1 + Intensidad media sonda 2

Ratio 2 es la proporción de la media acotada de las intensidades de las 10, 8 ó 6 réplicas de la sonda 3 que detecta la variante génica A dividido por la media acotada de las 10, 8 ó 6 réplicas de la sonda 3 que detecta la variante génica A más la media acotada de las 10, 8 ó 6 réplicas de la sonda 4 que detecta la variante génica B y puede calcularse mediante la ecuación:

Intensidad media sonda 3

Ratio 2 = -----

Intensidad media sonda 3+ Intensidad media sonda 4

- dichos ratios (ratio 1 y ratio 2) se sustituyen en tres funciones lineales, que caracterizan a cada uno de los tres genotipos posibles:

AA Función 1

AB Función 2

BB Función 3

en donde

AA representa el genotipo de un sujeto homocigoto para la variante génica A;

AB representa el genotipo de un sujeto heterocigoto para las variantes génicas A y B:

BB representa el genotipo de un sujeto homocigoto para la variante génica B;

Función 1 es la Función Lineal que caracteriza a los pacientes con el genotipo AA y consiste en una combinación lineal de las variables ratio 1 y ratio 2;

Función 2 es la Función Lineal para el genotipo AB y consiste en una combinación lineal de las variables ratio 1 y ratio 2;

Función 3 es la Función Lineal para el genotipo BB y consiste en una combinación lineal de las variables ratio 1 y ratio 2;

en donde las combinaciones lineales están formadas por constantes y cofactores que acompañan a las variables ratio 1 y ratio 2; y la función que presente un valor absoluto mayor determina el genotipo que presenta el paciente para la variante génica analizada.

Estos ratios sirven como variables de clasificación de los tres grupos para generar las funciones lineales.

En una realización particular del método de la invención A, en la etapa (i), se determina la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen NAT2 y la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en al menos uno de los genes IL6 o NOS3. Por tanto, en una realización concreta, se determina la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen NAT2 y la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen IL6; en otra realización concreta, se determina la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen NAT2 y la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen NOS3; y en otra realización concreta, se determina la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen NAT2 y la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen IL6 y la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en el gen NOS3. Los polimorfismos a analizar en dichos genes ya han sido mencionados previamente.

En otra realización particular, el método de la invención A comprende, además de determinar la presencia o ausencia de al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes seleccionados entre los genes IL6, NAT2 y NOS3, determinar la presencia o ausencia de un polimorfismo en un gen relacionado con deportes de resistencia o potencia, tal como un gen seleccionado del grupo formado por los genes ACE, ACTN3, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGT, APOA1, APOB, APOE, DSG2, GNB3, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NPY, OGG1, SOD2 y combinaciones de los mismos.

ACE (Enzima Convertidora de Angiotensina I) cataliza la conversión de angiotensina I a angiotensina II que controla la presión sanguínea por medio del sistema renina-angiotensina. El genotipo *del/del* se ha asociado como factor de riesgo genético de la enfermedad coronaria y la hipertensión arterial esencial. La delección presente se trata de una delección de un fragmento de 287 pares de bases (pb) en la posición 2306 del gen, en el intrón 16. Además, se ha observado que pacientes con diabetes mellitus no-insulino dependiente con este genotipo muestran una mayor intolerancia a la glucosa, siendo más propensos a desarrollar complicaciones vasculares. Asimismo, el alelo *ins* (inserción de dicho fragmento) se ha asociado con una mayor resistencia aeróbica (siendo más frecuente entre corredores de maratón), mientras que el alelo *del* se asocia a la mayor respuesta cardíaca al entrenamiento ya que predispone a la hipertrofia ventricular izquierda (Cam F et al. 2005; Can. J. Appl. Physiol. 30: 74-86). Ambos alelos pueden resultar beneficiosos, pero se ha asociado a potencial alto en el cálculo del potencial particular hemodinámica y respuesta al entrenamiento el alelo ACE *del* por su asociación con una mayor respuesta cardíaca al entrenamiento por hipertrofia cardíaca compensatoria y normal (a pesar de las contraindicaciones si la hipertrofia cardíaca es patológica).

El alelo 577Arg del gen ACTN3 (Actinina Alfa 3) se ha asociado con una mayor eficacia y rendimiento deportivo, predominando el genotipo Arg/Arg en aquellos atletas de mejor rendimiento. Se ha descrito que aproximadamente el 76% de los atletas de mayor resistencia son portadores de este alelo. Por otra parte, el alelo 577X (codón stop) aparece en aproximadamente el 18% de la población caucásica sana y determina una menor eficacia a nivel de la musculatura esquelética (Yang N et al. 2003; Am. J. Hum. Genet. 73: 627-31).

Los receptores adrenérgicos (ADRB) son los principales receptores cardíacos de adrenalina y noradrenalina. Regulan el mecanismo por el cual se incrementa el gasto cardíaco a través de la activación del sistema nervioso simpático. La variante alélica 389Arg del gen ADRB1 (Adrenergic beta-1 receptor) se relaciona con predisposición a insuficiencia cardíaca por señalización hiperactiva y con hipertensión arterial, y con mayor índice de masa corporal y obesidad (Dionne I et al. 2002; Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 26:633-9).

El ADRB2 (Receptor adrenérgico beta-2) juega un papel importante en la regulación de las funciones cardíacas, vasculares, pulmonares y metabólicas. En el caso de los pulmones, su estimulación produce una acción broncodilatadora. El polimorfismo G16R ha sido relacionado con un aumento de la distribución de la grasa corporal central y de la presión arterial sistólica, la variante alélica 16Arg se asocia con un mayor riesgo de síndrome metabólico. La variante 27Glu se asocia con riesgo de obesidad así como hipertensión, habiendo sido relacionada con aumento en los niveles de triglicéridos y con obesidad y síndrome metabólico. La lipólisis y la oxidación de grasa es más limitada en los portadores de los alelos 16Arg y 27Glu y tienen menos capacidad para utilizar los depósitos de grasa como fuente de energía durante el ejercicio (Eisenach J et al. 2005; J. Appl. Physiol. 99: 1776-81).

5 El SNP W64R en ADRB3 (Receptor adrenérgico beta-3) está relacionado con un aumento del índice de masa corporal. Dicha asociación con la obesidad está potenciada por un estilo de vida sedentario. La variante alélica 64Arg contribuye al incremento de la adiposidad abdominal, la disminución del gasto energético basal, el aumento de la resistencia a la pérdida de peso y el desarrollo temprano de diabetes mellitus tipo 2 (Fujisawa T et al. 1998. J. Clin. Endocrinol. Metab. 83:2441). Este efecto se ha observado principalmente en mujeres.

AGT (Angiotensinógeno) está involucrado en el sistema renina-angiotensina, sistema que regula la presión arterial. El polimorfismo M235T se asocia con la variabilidad de hipertrofia ventricular izquierda que se observa en atletas de resistencia aeróbica. Los atletas homocigotos Thr/Thr suelen tener el corazón más hipertrofiado (Karrjalainen J et al. 1999. J. Am. Coll. Cardiol. 34: 494-99).

10 APOA1 (Apolipoproteína A1) es el componente proteico mayoritario de la lipoproteína de alta densidad, HDL, o también llamada "colesterol bueno", que participa en el transporte reverso del colesterol. El polimorfismo en el promotor -75G>A modula la expresión del gen. El alelo A se asocia con una disminución en los niveles de HDL y un mayor riesgo de enfermedad coronaria. Además, se ha descrito que los sujetos con genotipo G/G muestran una redistribución favorecedora de las subfracciones de HDL en respuesta al ejercicio (Ruano G et al. 2005. Atherosclerosis 185:65-69).

15 APOB (Apolipoproteína B) es la apolipoproteína principal de la lipoproteína de baja densidad LDL o "colesterol malo". Las variantes alélicas 3480Trp, 3500Gln y 3531Cys están asociadas a una unión defectuosa al receptor de las LDL, y por tanto a hipercolesterolemia (Pullinger CR et al. J. Clin. Invest. 95:1225-34).

20 APOE (Apolipoproteína E) juega un importante papel en el metabolismo y transporte de lípidos. Está codificado por tres alelos: 2, 3 y 4 que determinan seis genotipos. El alelo E3 es el más frecuente, y está presente en aproximadamente el 95% de la población caucásica. El alelo E2 se asocia con niveles elevados de triglicéridos (TG) y colesterol total (CT). En concreto, el genotipo E2/E2 está asociado a hiperlipoproteinemia tipo III (el 94,4% de los pacientes con esta dislipemia son E2/E2). Dicha dislipemia cursa con niveles elevados de TG y CT causando trastornos circulatorios y enfermedad cardiovascular prematura. Sin embargo, es destacable que solamente el 2% de los sujetos E2/E2 desarrolle este fenotipo clínico. Apo E4 se asocia con aumento de CT y LDL (Siest G et al. 1995. Clin. Chem. 41:1068-86), y se ha relacionado también con disminución de HDL y aumento en los niveles de TG (Hixson J et al. 1991; Arterioscler. Thromb. 11:1237-44). Por ello, los portadores del alelo E4 suelen tener aumento de los niveles de CT y LDL, y aumento del riesgo de enfermedad coronaria, además de considerarse factor de riesgo de Alzheimer (efecto dosis dependiente: el 65% de los casos con Alzheimer confirmada anatomopatológicamente presentan genotipo APOE E4/E4), y demencia vascular. Aproximadamente, el 27% de los individuos de la población caucásica es portadora del alelo E4. Los sujetos portadores del alelo E3 se benefician más del ejercicio físico a la hora de normalizar sus cifras de LDL, y en especial aquellos sujetos con genotipo E3/E3 (9-11).

35 DSG2 (Desmogleina 2) es una caderina que, junto a la desmocolina, forman los dos componentes transmembrana esenciales del desmosoma. DSG2 se expresa en varios tejidos, incluyendo el miocardio. Mutaciones en varios genes involucrados en la formación del desmosoma aumentan las posibilidades de muerte súbita con el ejercicio porque originan displasia arritmogénica del ventrículo derecho (DAVD). En una serie de 80 sujetos DAVD, 16% eran portadores de mutaciones en el gen DSP, 14% en PKP2, 2,5% en TGF- β 3 y 10% en DSG2. El método de la invención A, en una realización particular, incluye el análisis de 5 mutaciones descritas en DSG2 asociadas con DAVD, por lo que el biochip ayudará a identificar aquellos sujetos con riesgo de muerte súbita con el ejercicio portadores de estas mutaciones (<10% de los casos de miocardiopatía arritmogénica) (Awad M et al. 2006; Am. J. Hum. Genet. 79:136-42).

40 GNB3 (del inglés "Guanine Nucleotide Binding protein, beta, polypeptide 3" o proteína de unión al nucleótido guanina, beta, polipéptido 3) está involucrado en vías de señalización de varias hormonas (como la insulina) y neurotransmisores. A nivel cardiovascular, afecta a la reactividad vascular y la proliferación tisular en el miocardio. El alelo 825T se ha asociado con obesidad e hipertensión (Rankinen T et al. 2002; Physiol. Genomics 8:151-7).

45 GSTM1 (Glutation S-transferasa M1) es una enzima que interviene en la detoxificación de metabolitos electrofílicos que pueden actuar con efectos carcinogénicos, por ello que el alelo nulo se asocie con riesgo carcinogénico. Además, aquellos sujetos con genotipo nulo tienen mayor riesgo carcinogénico si son portadores de otros alelos también asociados a este riesgo (alelo 105Val de GSTP1) (Rebbeck T et al. 1997; Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 6:733-3).

50 GSTP1 (Glutation S-transferasa P1) es una enzima involucrada en procesos de detoxificación. Por ello, los alelos 105Val y 114Val que se han asociado con una disminución de la actividad de GSTP1 se relacionan con mayor riesgo carcinogénico (Miller D et al. Epidemiology 14:545-51).

55 GSTT1 (Glutation S-transferasa T1) se encuentra involucrado en la detoxificación de diversos metabolitos, entre los que se incluyen ciertos carcinógenos. En este gen, el polimorfismo presente/nulo está asociado a riesgo carcinogénico. Los individuos fumadores y portadores de la variante nula podrían tener un mayor riesgo de padecer cáncer de pulmón o de vejiga debido a una disminución de la capacidad metabólica de los carcinógenos asociados al tabaco (Schneider J et al. 2004; Cancer Lett. 10:65-74).

NPY codifica un neuropéptido que regula el apetito, el sistema lipoestabilizador, y la secreción de cortisol e insulina. El alelo 7Pro se ha asociado con riesgo pro-aterogénico (Uusitupa M I, et al 1998. Ann. Med. 30:508-510).

OGG1 (8-oxoguanina ADN glicosilasa 1) es una enzima que repara daños en el DNA causados por mutágenos medio-ambientales, por ello tiene una importante función antitumoral. La variante 326Cys confiere reducción de la actividad enzimática, por lo que está asociada a mayor riesgo carcinogénico (Sugimura H et al. 1999; Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 8:669-74).

SOD2 (Superóxido dismutasa 2) es una enzima intracelular que participa en la transformación de radicales O_2^- en H_2O_2 , siendo crucial en la protección frente al estrés oxidativo. La variante alélica 16Val se ha asociado con un aumento del daño oxidativo, que deriva en aceleración del proceso de envejecimiento (Liu G et al. 2004; Cancer 101:2802-8).

Aunque prácticamente cualquier polimorfismo apropiado presente en dichos genes puede ser analizado, en una realización particular, los SNPs analizados en los genes ACE, ACTN3, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGT, APOA1, APOB, APOE, DSG2, GNB3, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NPY, OGG1 y SOD2, se indican en la **Tabla 1** (Ejemplo 1), al igual que los polimorfismos en los genes IL6, NAT2 y NOS3. La determinación de la presencia o ausencia de polimorfismos en dichos genes puede llevarse a cabo de la misma forma o similar a la forma de llevar a cabo la determinación de polimorfismos en los genes IL6, NAT2 y NOS3, previamente descrita.

Adicionalmente, si se desea, los resultados obtenidos con el método de la invención A se pueden complementar con la determinación de variables fisiológicas para establecer el comportamiento atlético de un sujeto, e.g., determinar el consumo de oxígeno, el límite de lactato, el test de Wingate (prueba de potencia anaeróbica y capacidad), la potencia crítica, la tasa metabólica en descanso, el test de velocidad/potencia, el test de fuerza/flexibilidad, etc.

A modo simplemente ilustrativo, en una realización particular, la determinación de la presencia o ausencia de dichos polimorfismos en al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia, por ejemplo, los genes IL6, NAT2 y NOS3, de acuerdo con el método de la invención A se llevaría a cabo mediante un proceso que comprende:

- a) proporcionar, por cada polimorfismo a determinar al menos 2 parejas de oligonucleótidos, en el que:
 - una de las parejas consiste en las sondas 1 y 2, y la otra pareja de sondas en las sondas 3 y 4;
 - una de las sondas de cada una de dichas parejas de sondas reconoce de manera específica la variante A del SNP a determinar y la otra reconoce de manera específica la variante B de cada uno de los SNPs a determinar;
 - cada sonda está presente en réplicas; y
 - cada réplica de cada sonda está unida a un soporte sólido;
- b) amplificar enzimáticamente las regiones diana de los genes a analizar que contienen los polimorfismos a detectar y marcar los productos de dicha amplificación que comprenden las regiones diana que contienen los polimorfismos a detectar;
- c) poner en contacto dichas regiones diana con dichas sondas bajo condiciones que permiten una adecuada hibridación y formación de complejos de hibridación ácido nucleico-sonda;
- d) determinar la intensidad de marcaje de cada réplica para obtener unos valores brutos de intensidad;
- e) opcionalmente, corregir los valores brutos de intensidad para obtener un valor corregido para cada réplica; y
- f) aplicar un algoritmo a los valores brutos de intensidad determinados en la etapa d), o corregidos en la etapa e), y determinar el genotipo respecto a cada variante génica, en el que la aplicación del algoritmo implica el cálculo de una intensidad media de cada réplica de cada sonda y en el que el algoritmo emplea funciones lineales que caracterizan cada uno de los posibles genotipos: AA, AB o BB para cada variante génica.

Método de la invención B

Estudios adicionales realizados por los inventores han puesto de manifiesto, sorprendentemente, la existencia de una asociación de un SNP, en concreto el polimorfismo Trp64Arg, en el gen ADRB3 con deportes de resistencia (Ejemplo 1.6).

Se conocen tres genes que codifican los receptores β adrenérgicos (β ARs): ADRB1, que codifica para β 1AR; ADRB2, que codifica para β 2AR; y ADRB3, que codifica para β 3AR. Se conocía la relación de los ADRB1 y ADRB2 con el comportamiento de un sujeto en eventos deportivos [el SNP Gly16Arg en el gen ADRB2 se había asociado previamente con eventos de resistencia en deportistas de élite (Wolfarth B et al. Metabolism 2007; 56:1649-51)]; sin embargo, poco o nada se conocía sobre la posible relación del gen β 3AR (ADRB3) con los eventos deportivos. El polimorfismo G16R del gen ADRB2 se había asociado previamente con eventos de resistencia en deportistas de élite, con el alelo Gly (G) ejerciendo un efecto desfavorable (Wolfarth B et al. Metabolism 2007; 56:1649-51).

El polimorfismo Trp64Arg del gen ADRB3 (número de acceso rs4994 de la base de datos de SNPs) fue asociado originalmente con un aumento del riesgo de ganar peso en personas obesas. Sin embargo, investigaciones posteriores no pudieron demostrar una asociación entre dicho polimorfismo W64R y fenotipos de composición corporal, al menos en caucásicos. Ahora, mediante un estudio realizado para comparar las frecuencias alélicas y el genotipo de la variante W64R del gen ADRB3 en personas no-atletas caucásicos (controles) y en atletas de élite varones, tanto deportistas de resistencia como de potencia, se ha observado que dicho polimorfismo W64R en el gen ADRB3 está relacionado con el comportamiento en eventos deportivos; en concreto, el alelo Arg (C) en el codón 64 del gen ADRB3 estaba claramente sobre-representado en el grupo de corredores y ciclistas en comparación con el grupo de individuos control.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se relaciona con un método, método de la invención B, para evaluar el comportamiento de un sujeto ante deportes de resistencia, que comprende:

- (i) determinar la presencia o ausencia de al menos un SNP en el gen ADRB3 de dicho sujeto; y
- (ii) evaluar el comportamiento atlético de dicho sujeto a la vista de la presencia de dichos polimorfismos.

En una realización particular, dicho SNP del gen ADRB3 corresponde con la mutación W64R; la presencia de la mutación Arg64 está asociada con un mejor comportamiento atlético de dicho sujeto en un deporte de resistencia. Aunque no se desea estar vinculado por ninguna teoría, se cree que la asociación mencionada en el polimorfismo W64R en el gen ADRB3 y los eventos deportivos de resistencia pueden ser explicados por los numerosos efectos que β 3AR ejerce en los tejidos del cuerpo humano, en concreto del tejido adiposo y especialmente del corazón (Gauthier C et al. J Clin Invest 1996; 98: 556-62). El β 3AR estimula la lipólisis y la termogénesis. Además de regular la angiogénesis y la vasorelajación en la microvasculatura coronaria, los β 3ARs pueden tener un efecto inotrópico (Rozec B et al. Ther 2006; 111(3):652-73). Por tanto, el polimorfismo W64R en el gen ADRB3, que está asociado con una actividad con una reducida actividad *in vitro* adenilato ciclasa estimulada por agonistas, podría favorecer la contracción miocárdial, por ejemplo, estimulando el inotropismo cardíaco. Esto podría explicar, al menos parcialmente, un cierto efecto negativo en el alelo minoritario C sobre eventos de resistencia.

Por tanto, con el fin de determinar si un sujeto no deportista posee mayor predisposición para deportes de resistencia, se podría determinar si dicho sujeto presenta el polimorfismo W64R en el gen ADRB3.

Con el fin de determinar el polimorfismo W64R en el gen ADRB3, se procede de la misma manera que la descrita anteriormente para la determinación de los polimorfismos del método de la invención A. Sin embargo, hay que considerar que se podrían utilizar para el genotipado, además de ADN-chips, técnicas de detección de dicho polimorfismo aisladamente, tal como secuenciación o RFLP.

ADN-chip

En una realización particular, para la puesta en práctica del método de la invención A se ha desarrollado un ADN-chip de genotipado útil para detectar los polimorfismos a los que se hace referencia en dicho método de la invención A.

Por tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un ADN-chip, en adelante ADN-chip de la invención, que comprende un soporte sobre el que están depositadas

- una pluralidad de sondas diferentes útiles para genotipar o para determinar dos o más polimorfismos en al menos un gen relacionado con deportes de resistencia y/o potencia; o, alternativamente,
- una pluralidad de sondas diferentes útiles para genotipar o para determinar al menos un polimorfismo en cada uno de al menos dos genes relacionados con deportes de resistencia y/o potencia.

En una realización particular, dicho ADN-chip comprende un soporte sobre el que están depositadas una pluralidad de sondas diferentes útiles para detectar SNPs en dos o más genes seleccionados entre los genes ILE6, NAT2 y NOS3.

En una realización particular, dicha pluralidad de sondas comprende al menos dos conjuntos de sondas seleccionadas entre (véase la **Tabla 2** – Ejemplo 1):

- sondas útiles para detectar SNPs en el gen ILE6 seleccionadas entre las sondas identificadas como SEQ ID NO: 93 – SEQ ID NO: 96;
- sondas útiles para detectar SNPs en el gen NAT2 seleccionadas entre las sondas identificadas como SEQ ID NO: 97 – SEQ ID NO: 124; y
- sondas útiles para detectar SNPs en el gen NOS3 seleccionadas entre las sondas identificadas como SEQ ID NO: 125 – SEQ ID NO: 132.

En una realización concreta, el ADN-chip de la invención comprende un soporte sobre el que están depositadas una pluralidad de sondas diferentes útiles para detectar SNPs en dos o más genes seleccionados entre los genes NOS3, NAT2 y ILE6. Dichas sondas están depositadas siguiendo un patrón determinado y distribuidas de forma homogénea a lo largo y ancho del chip y, además, no están agrupadas dentro de un mismo polimorfismo.

Adicionalmente, si se desea, la pluralidad de sondas presente en el ADN-chip de la invención comprende además de dichas sondas útiles para detectar SNPs en dos o más genes seleccionados entre los genes NOS3, NAT2 y ILE6, un conjunto de sondas diferentes útiles para detectar un polimorfismo en un gen relacionado con deportes de resistencia o potencia, tal como un gen seleccionado del grupo formado por los genes ACE, ACTN3, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGT, APOA1, APOB, APOE, DSG2, GNB3, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NPY, OGG1, SOD2 y combinaciones de los mismos.

El ADN-chip de la invención también puede contener, si se desea, unos oligonucleótidos depositados sobre el soporte útiles como controles positivos y negativos de las reacciones de amplificación y/o hibridación.

Para que el presente ADN-chip permita la detección simultánea, sensible, específica y reproducible de polimorfismos, resulte eficiente y sea realmente una herramienta útil en la determinación del comportamiento atlético, la traducción práctica de este análisis requiere del correspondiente algoritmo que integre el valor real de todos los polimorfismos identificados, teniendo en cuenta las sinergias y los antagonismos que ocurren entre ellos. Sólo así se garantiza un análisis objetivo y una visión unitaria de un rasgo tan complejo y multifactorial tal y como el potencial deportivo.

Con el fin de disminuir al máximo la tasa de falsos positivo y negativo, el ADN-chip de la invención comprende dos parejas de sondas para detectar cada polimorfismo. Cada pareja de sondas está constituida por una sonda específica para la detección de una variación genética (e.g., el alelo A) y por otra sonda diseñada para la detección de otra variación genética (e.g., el alelo B). En el caso de mutaciones puntuales, la base que difiere entre el alelo A y el B (base a detectar) se coloca en la posición central de la sonda, lo que asegura la máxima especificidad en la hibridación. En el caso de inserciones, duplicaciones o deleciones son varias las bases que se pueden detectar. Sin embargo, el diseño se hace completamente equivalente considerando como posición central el primer nucleótido que es diferente en la secuencia normal con respecto a la secuencia mutada.

En una realización particular, el DNA-chip de la invención comprende 10 réplicas de cada una de las 4 sondas utilizadas para detectar cada variación genética; en otra realización particular, el DNA-chip de la invención comprende 8 réplicas de cada una de las 4 sondas utilizadas para detectar cada variación genética; y, en otra realización particular, el DNA-chip de la invención comprende 6 réplicas de cada una de las 4 sondas utilizadas para detectar cada variación genética.

La disposición (colocación) de las sondas en el soporte está predeterminada. En una realización particular, las sondas depositadas en el soporte, aunque mantienen una disposición predeterminada, no están agrupadas por variación genética sino que tienen una distribución al azar, la cual, si se desea, puede ser siempre la misma.

La capacidad de las sondas específicas de polimorfismos para discriminar entre las variantes génicas (e.g., el alelo A y el alelo B) depende de las condiciones de hibridación, de la secuencia que flanquea a la mutación y de la estructura secundaria de la secuencia en la que se quiere detectar el polimorfismo. Unas condiciones de hibridación estables permiten establecer la hebra y la longitud apropiada de las sondas con el fin de maximizar la discriminación. Partiendo de sondas de 25 nucleótidos que detectan una variación genética (e.g., el alelo A) y otra variación genética (e.g., el alelo B) en ambas hebras (hebra sentido y hebra antisentido), se requiere, en general, una media de 8 sondas ensayadas experimentalmente para quedarse con las dos parejas definitivas.

En la **Tabla 1** (Ejemplo 1) se incluye una relación de polimorfismos en los genes IL6, NAT2 y NOS3 así como en otros genes relacionados con deportes de resistencia o potencia, mientras que en la **Tabla 2** (Ejemplo 1) se incluye una relación de sondas utilizadas para identificar polimorfismos en dichos genes. No obstante, se pueden ir incorporando en los ADN-chips de la invención sondas que permitan la identificación de otros polimorfismos en dichos genes así como sondas que permitan la identificación de polimorfismos en otros genes relacionados con deportes de resistencia o potencia.

El soporte sobre el que están depositadas la pluralidad de sondas puede ser cualquier superficie sólida sobre la que se puedan unir oligonucleótidos. Prácticamente cualquier soporte sobre el que pueda unirse o inmovilizarse un oligonucleótido, utilizado en la producción de ADN-chips, puede ser utilizado para la puesta en práctica de esta invención. A modo ilustrativo, dicho soporte puede ser un soporte no poroso, por ejemplo, un soporte de cristal, silicio, plástico, etc., o bien un soporte poroso, por ejemplo, membranas (nylon, nitrocelulosa, etc.), micropartículas, etc. En una realización particular, dicho soporte es un portaobjetos (porta) de cristal.

Las sondas se inmovilizan (unen) sobre el soporte utilizando técnicas convencionales de inmovilización de oligonucleótidos sobre la superficie de los soportes. Dichas técnicas dependen, entre otros factores, de la naturaleza del soporte utilizado [porosa (membranas, micropartículas, etc.) o no porosa (cristal, plástico, silicio, etc.)]. En general, las sondas pueden inmovilizarse sobre el soporte mediante el empleo de técnicas de inmovilización no covalentes o bien

mediante el empleo de técnicas de inmovilización basadas en la unión covalente de las sondas a la superficie del soporte mediante procedimientos químicos.

La preparación de soportes no porosos (e.g., cristal, silicio, plástico, etc.) requiere, en general, un tratamiento previo con grupos reactivos (e.g., amino, aldehído, etc.) o bien recubrir la superficie del soporte con un miembro de un par de unión específica (e.g., avidina, estreptavidina, etc.). Asimismo, en general, resulta conveniente activar previamente las sondas a inmovilizar mediante grupos tiol, amino, etc., o biotina, etc., con el fin de conseguir una inmovilización específica de las sondas sobre el soporte.

La inmovilización de las sondas en el soporte puede llevarse a cabo por métodos convencionales, por ejemplo, mediante técnicas basadas en la síntesis *in situ* de las sondas sobre el propio soporte (e.g., fotolitografía, síntesis química directa, etc.), o mediante técnicas basadas en el empleo de brazos robotizados que depositan la sonda correspondiente presintetizada (impresión sin contacto, impresión por contacto, etc.), etc.

Para controlar la calidad del proceso de fabricación del ADN-chip en términos de señal de hibridación, ruido de fondo, especificidad, sensibilidad, reproducibilidad de cada réplica (coeficiente de variación) así como del tamaño y forma de los puntos impresos (sondas) se puede utilizar un ADN comercial. A modo ilustrativo, como control de calidad de la impresión de los ADN-chips de la invención, se lleva a cabo la hibridación con un ADN con genotipo conocido de uno de cada un número determinado de soportes cargados con las sondas, por ejemplo, cada 20 soportes impresos. Se comprueba el correcto genotipado de ese ADN control.

Los inventores han diseñado, producido y validado la utilización del método de la invención A en la detección de polimorfismos relacionados específicamente con deportes de resistencia o de potencia. Por tanto, en una realización particular, el ADN-chip de la invención es un ADN-chip que permite la detección simultánea, sensible, específica y reproducible de polimorfismos relacionados específicamente con deportes de resistencia o de potencia; ejemplos ilustrativos, no limitativos, de polimorfismos relacionados específicamente a deportes de resistencia o de potencia que pueden ser identificados, se recogen en la **Tabla 1** del Ejemplo 1; no obstante, la relación de polimorfismos contenida en dicha tabla puede incrementarse con otros que vayan identificándose posteriormente y que estén asociados a deportes de resistencia o potencia. Las secuencias de todos los genes mencionados en la **Tabla 1** son conocidas y están recogidas, entre otras, en las siguientes páginas webs: GeneBank (NCBI), y Snpper.chip.org (Innate Immunity PGA).

Kit de la invención

En otro aspecto, la invención se relaciona con un kit para la puesta en práctica de cualquiera de los métodos de la invención, tanto el método A como el método B, en adelante kit de la invención, que comprende un ADN-chip de la invención que comprende un soporte sobre el que están depositadas una pluralidad de sondas que permiten la detección de polimorfismos presentes en uno o más genes asociados con deportes de resistencia o potencia. En una realización particular, el kit de la invención contiene un protocolo de detección de dichos polimorfismos, que comprende el empleo de un algoritmo para la interpretación de los datos generados con la aplicación de dicho método; y, opcionalmente, un software informático que facilita, automatiza y asegura la reproducibilidad de la aplicación de dicho algoritmo para la interpretación de los datos generados con la aplicación de la invención. En una realización particular, el kit se utiliza para la puesta en práctica del método de la invención A y en otra realización particular para la puesta en práctica del método de la invención B.

En una realización particular, el kit de la invención puede comprender un kit de amplificación que comprende al menos (i) un par de oligonucleótidos cebadores útiles para amplificar mediante PCR una región de un primer gen, y (ii) un par de oligonucleótidos cebadores útiles para amplificar mediante PCR una región de un segundo gen, en donde dichos primero y segundo genes se seleccionan entre los genes NOS3, NAT2 y ILE6, y opcionalmente, instrucciones para su empleo.

En una realización particular, el kit de la invención puede comprender el ADN chip y opcionalmente el kit de amplificación. En otra realización particular el kit de la invención sólo contiene el ADN chip y en otra realización particular sólo contiene el kit de amplificación.

El siguiente ejemplo sirve para ilustrar la invención y no debe ser considerado como limitativo del alcance de la misma.

EJEMPLO 1

Detección de polimorfismos asociados a deportes de resistencia o de potencia

1.1. Población estudiada

La población estudiada comprendió 100 atletas de resistencia varones que compitieron durante los últimos diez años (edad, 20-39 años; 50 eran corredores mundiales de tipo resistencia, incluyendo campeones europeos y finalistas olímpicos, y 50 ciclistas profesionales, que fueron finalistas del "tour" de Francia); y 53 atletas de potencia varones (40 atletas en lo más alto a nivel nacional y 13 a nivel olímpico) que también compitieron durante los últimos diez años

(edad, 20-33 años, saltadores, lanzadores y corredores de velocidad). Todos los participantes eran caucásicos españoles de al menos tres generaciones.

1.2. Diseño del ADN-chip

- 5 Se diseñó y fabricó un ADN-chip para detectar polimorfismos humanos o SNPs (del inglés, Single Nucleotide Polymorphisms) en genes asociados a eventos deportivos de resistencia o de potencia, que permitía la detección simultánea, sensible, específica y reproducible de polimorfismos asociados a dichos eventos. Para la búsqueda de genes y polimorfismos implicados en el comportamiento atlético, se utilizaron las bases de datos PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/entrez>) y Hugenet (<http://apps.nccd.cdc.gov/genomics/GDPQueryTool/frmQueryAdvPage.asp>). Los polimorfismos se confirmaron y se asociaron a un identificador utilizando la base de datos de polimorfismos (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP). Asimismo, se analizó su frecuencia en la población caucásica utilizando el proyecto HapMap (<http://www.hapmap.org/index.html.en>). Las secuencias de nucleótido para el diseño de sondas específicas de alelo y cebadores de PCR se encontraron en la base de datos SNPper (<http://snpper.chip.org/bio>). Las sondas específicas de secuencia y los cebadores se diseñaron utilizando el programa de ordenador Primer3, disponible gratuitamente en <http://frodo.wi.mit.edu/>.
- 10
- 15 Finalmente, se eligieron 36 polimorfismos localizados en 20 genes diferentes asociados para ser genotipados en los sujetos deportistas (**Tabla 1**). No obstante, se pueden ir incorporando en dicho ADN-chip (ADN-chip de la invención) sondas que permitan la identificación de otros polimorfismos asociados también con eventos deportivos.

Tabla 1

Polimorfismos analizados en el ADN-chip

- 20 [Se indica el nombre del gen y el polimorfismo (cambio del aminoácido, cambio de nucleótido, “ins”: inserción, “del”: delección, X: codón stop, signo menos (-): localizado X nucleótidos antes del codón de iniciación]

SNP	Gen	Cambio y posición en el gen
SNP01	ACE	2306 (intron 16) ins>del (fragmento 287pb)
SNP02	ACTN3	R577X
SNP03	ADRB1	G389R
SNP04	ADRB2	Q27E
SNP05	ADRB2	G16R
SNP06	ADRB3	W64R
SNP07	AGT	M235T
SNP08	APOA1	-75 G>A
SNP09	APOB	R3480W
SNP10	APOB	R3500Q
SNP11	APOB	R3531C
SNP12	APOE	C112R
SNP13	APOE	R158C
SNP14	DSG2	R45Q
SNP15	DSG2	R48H
SNP16	DSG2	W305X
SNP17	DSG2	C506Y

SNP18	DSG2	G811C
SNP19	GNB3	825 C>T
SNP20	GSTM1	Gen presente>nulo
SNP21	GSTP1	I105V
SNP22	GSTP1	A114V
SNP23	GSTT1	Gen presente>nulo
SNP24	IL6	-174 G>C
SNP25	NAT2	191 G>A (R64Q)
SNP26	NAT2	282 C>T
SNP27	NAT2	341T>C (I114T)
SNP28	NAT2	481C>T
SNP29	NAT2	590G>A (R197K)
SNP30	NAT2	803A>G (K268R)
SNP31	NAT2	857G>A (G286E)
SNP32	NOS3	-786 T>C
SNP33	NOS3	E298D
SNP34	NPY	L7P
SNP35	OGG1	C326S
SNP36	SOD2	A16V

5 En este caso concreto, el ADN-chip diseñado y fabricado constaba de un soporte (portaobjetos de cristal) que contenía sobre su superficie una pluralidad de sondas que permitían la detección de los polimorfismos mencionados anteriormente. Estas sondas eran capaces de hibridar con las secuencias diana amplificadas de los genes cuya variación genética se deseaba analizar. El diseño, fabricación, validación y análisis del ADN-chip se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento descrito en Tejedor et al. 2005; (Clin Chem 2005; 7:1137-1144). Las secuencias de ADN de cada una de las sondas utilizadas son las siguientes (**Tabla 2**) [en general, se indica el nombre del gen y el polimorfismo (cambio del aminoácido, cambio de nucleótido, "ins": inserción, "del": delección, X: codón stop)]:

Tabla 2

Sondas utilizadas

10

SNP01	ACE Intron 16 ins/del
SEQ ID NO: 1	GATTACAGGCGTGATACAGTCAC
SEQ ID NO: 2	GTGACTGTATCACGCCTGTAATC
SEQ ID NO: 3	AGACCTGCTGCCTATACAGTCAC
15 SEQ ID NO: 4	GTGACTGTATAGGCAGCAGGTCT
SNP02	ACTN3 R577X
SEQ ID NO: 5	CCGAGGCTGACCGAGAGCGAGGT

SEQ ID NO: 6 CCGAGGCTGACTGAGAGCGAGGT
 SEQ ID NO: 7 ACCTCGCTCTCGGTCAGCCTCGG
 SEQ ID NO: 8 ACCTCGCTCTCAGTCAGCCTCGG
SNP03 ADRB1 G389R
 5 SEQ ID NO: 9 AGGCCTTCCAGCGACTGCTCTGC
 SEQ ID NO: 10 GCAGAGCAGTCGCTGGAAGGCCT
 SEQ ID NO: 11 AGGCCTTCCAGGGACTGCTCTGC
 SEQ ID NO: 12 GCAGAGCAGTCCCTGGAAGGCCT
SNP04 ADRB2 Q27E
 10 SEQ ID NO: 13 ACGTCACGCAGGAAAGGGACGAG
 SEQ ID NO: 14 CGTCACGCAGGAAAGGGACGA
 SEQ ID NO: 15 ACGTCACGCAGCAAAGGGACGAG
 SEQ ID NO: 16 CGTCACGCAGCAAAGGGACGA
SNP05 ADRB2 G16R
 15 SEQ ID NO: 17 TGGCACCCAATAGAAGCCATGCG
 SEQ ID NO: 18 CTGGCACCCAATAGAAGCCATGCGC
 SEQ ID NO: 19 TGGCACCCAATGGAAGCCATGCG
 SEQ ID NO: 20 CTGGCACCCAATGGAAGCCATGCGC
SNP06 ADRB3 W64R
 20 SEQ ID NO: 21 TGGCCATCGCCTGGACTCCGAGA
 SEQ ID NO: 22 TCTCGGAGTCCAGGCGATGGCCA
 SEQ ID NO: 23 TGGCCATCGCCCGACTCCGAGA
 SEQ ID NO: 24 TCTCGGAGTCCGGGCGATGGCCA
SNP07 AGT M235T
 25 SEQ ID NO: 25 GGCTGCTCCCTGACGGGAGCCAGTGTG
 SEQ ID NO: 26 CACACTGGCTCCCGTCAGGGAGCAGCC
 SEQ ID NO: 27 GGCTGCTCCCTGATGGGAGCCAGTGTG
 SEQ ID NO: 28 CACACTGGCTCCCATCAGGGAGCAGCC
SNP08 APOA1 -75 G>A
 30 SEQ ID NO: 29 AGCCCAGCCCCGGCCCTGTTG
 SEQ ID NO: 30 GCCCAGCCCCGGCCCTGTT
 SEQ ID NO: 31 AGCCCAGCCCTGGCCCTGTTG
 SEQ ID NO: 32 GCCCAGCCCTGGCCCTGTT
SNP09 APOB R3480W
 35 SEQ ID NO: 33 CGGTTCTTTCTCGGGAATATTCA
 SEQ ID NO: 34 TGAATATTCCCGAGAAAGAACCG

SEQ ID NO: 35 CGGTTCTTTCTTGGAATATTCA
 SEQ ID NO: 36 TGAATATTCCCAAGAAAGAACCG
SNP10 APOB R3500Q
 SEQ ID NO: 37 CAAGAGCACACGGTCTTCAGTGA
 5 SEQ ID NO: 38 TCACTGAAGACCGTGTGCTCTTG
 SEQ ID NO: 39 CAAGAGCACACAGTCTTCAGTGA
 SEQ ID NO: 40 TCACTGAAGACTGTGTGCTCTTG
SNP11 APOB R3531C
 SEQ ID NO: 41 CCACACTCCAACGCATATATTCC
 10 SEQ ID NO: 42 GGAATATATGCGTTGGAGTGTGG
 SEQ ID NO: 43 CCACACTCCAATGCATATATTCC
 SEQ ID NO: 44 GGAATATATGCATTGGAGTGTGG
SNP12 APOE C112R
 SEQ ID NO: 45 ATGGAGGACGTGTGCGGCCGCCTGG
 15 SEQ ID NO: 46 CCAGGCGGCCGCACACGTCCTCCAT
 SEQ ID NO: 47 ATGGAGGACGTGCGGCCGCCTGG
 SEQ ID NO: 48 CCAGGCGGCCGCACGTCCTCCAT
SNP13 APOE R158C
 SEQ ID NO: 49 GACCTGCAGAAGCGCCTGGCAGTGT
 20 SEQ ID NO: 50 ACACTGCCAGGCGCTTCTGCAGGTC
 SEQ ID NO: 51 GACCTGCAGAAGTGCCTGGCAGTGT
 SEQ ID NO: 52 ACACTGCCAGGCACTTCTGCAGGTC
SNP14 DSG2 R45Q
 SEQ ID NO: 53 CATTTAGTGCGGCAAAAGCGC
 25 SEQ ID NO: 54 CATTTAGTGCAGCAAAAGCGC
 SEQ ID NO: 55 ATTTAGTGCGGCAAAAGCG
 SEQ ID NO: 56 ATTTAGTGCAGCAAAAGCG
SNP15 DSG2 R48H
 SEQ ID NO: 57 CGGCAAAAGCGCGCCTGGATC
 30 SEQ ID NO: 58 CGGCAAAAGCACGCCTGGATC
 SEQ ID NO: 59 GATCCAGGCGCGCTTTTGCCG
 SEQ ID NO: 60 GATCCAGGCGTGCTTTTGCCG
SNP16 DSG2 W305X
 SEQ ID NO: 61 TCTGATAATTGGCTGGCAAATTT
 35 SEQ ID NO: 62 TCTGATAATTGACTGGCAAATTT
 SEQ ID NO: 63 CTGATAATTGGCTGGCAAATT

SEQ ID NO:64 CTGATAATTGACTGGCAAATT

SNP17 DSG2 C506Y

SEQ ID NO: 65 GCAGACAATCTGTACGATGCAG

SEQ ID NO: 66 GCAGACAATCTATCACGATGCAG

5 SEQ ID NO: 67 CTGCATCGTGACAGATTGTCTGC

SEQ ID NO:68 CTGCATCGTGATAGATTGTCTGC

SNP18 DSG2 G811C

SEQ ID NO: 69 TGCTTCTATTGGTTGTTGCAG

SEQ ID NO: 70 TGCTTCTATTCGTTGTTGCAG

10 SEQ ID NO: 71 GCTTCTATTGGTTGTTGCA

SEQ ID NO: 72 GCTTCTATTCGTTGTTGCA

SNP19 GNB3 825 C>T (S275S)

SEQ ID NO: 73 GGCATCACGTCCGTGGCCTTCTC

SEQ ID NO: 74 GAGAAGGCCACGGACGTGATGCC

15 SEQ ID NO: 75 GGCATCACGTCTGTGGCCTTCTC

SEQ ID NO: 76 GAGAAGGCCACAGACGTGATGCC

SNP20 GSTM1 presente>nulo

SEQ ID NO: 77 CACATATTCTTGGCCTTCTGCAGAT

SEQ ID NO: 78 ATCTGCAGAAGGCCAAGAATATGTG

20 SEQ ID NO: 79 CACATATTCTTGACCTTCTGCAGAT

SEQ ID NO: 80 ATCTGCAGAAGGTCAAGAATATGTG

SNP21 GSTP1 I105V

SEQ ID NO: 81 GCTGCAAATACATCTCCCTCATC

SEQ ID NO: 82 GATGAGGGAGATGTATTTGCAGC

25 SEQ ID NO: 83 GCTGCAAATACGTCTCCCTCATC

SEQ ID NO: 84 GATGAGGGAGACGTATTTGCAGC

SNP22 GSTP1 A114V

SEQ ID NO: 85 CTGGCAGGAGGCGGGCAAGGATG

SEQ ID NO: 86 ATCCTTGCCCGCCTCCTGCCA

30 SEQ ID NO: 87 CTGGCAGGAGGTGGGCAAGGATG

SEQ ID NO: 88 ATCCTTGCCCGCCTCCTGCCA

SNP23 GSTT1 presente>nulo

SEQ ID NO: 89 CTGCCTAGTGGGTTCACCTGCCCCAC

SEQ ID NO: 90 GTGGGCAGGTGAACCCACTAGGCAG

35 SEQ ID NO: 91 CTGCCTAGTGGGGTCACCTGCCCCAC

SEQ ID NO: 92 GTGGGCAGGTGACCCCACTAGGCAG

SNP24 IL6 -174 C>G

SEQ ID NO: 93 TTGTGTCTTGCGATGCTAAAGGA

SEQ ID NO: 94 TCCTTTAGCATCGCAAGACACAA

SEQ ID NO: 95 TTGTGTCTTGCCATGCTAAAGGA

5 SEQ ID NO: 96 TCCTTTAGCATGGCAAGACACAA

SNP25 NAT2 R64Q

SEQ ID NO: 97 ACCACCCACCCCGGTTTCTTCTT

SEQ ID NO: 98 CCACCCACCCCGGTTTCTTCT

SEQ ID NO: 99 ACCACCCACCCTGGTTTCTTCTT

10 SEQ ID NO: 100 CCACCCACCCTGGTTTCTTCT

SNP26 NAT2 282 C>T

SEQ ID NO: 101 AGGGTATTTTACATCCCTCCAGTT

SEQ ID NO: 102 GGGTATTTTACATCCCTCCAGT

SEQ ID NO: 103 AGGGTATTTTATATCCCTCCAGTT

15 SEQ ID NO: 104 GGGTATTTTATATCCCTCCAGT

SNP27 NAT2 I114T

SEQ ID NO: 105 GCAGGTGACCATTGACGGCAGGA

SEQ ID NO: 106 CAGGTGACCATTGACGGCAGG

SEQ ID NO: 107 GCAGGTGACCACTGACGGCAGGA

20 SEQ ID NO: 108 CAGGTGACCACTGACGGCAGG

SNP28 NAT2 481C>T

SEQ ID NO: 109 GGAATCTGGTACCTGGACCAAATCA

SEQ ID NO: 110 AGGAATCTGGTACCTGGACCAAATCAG

SEQ ID NO: 111 GGAATCTGGTACTTGGACCAAATCA

25 SEQ ID NO: 112 AGGAATCTGGTACTTGGACCAAATCAG

SNP29 NAT2 R197Q

SEQ ID NO: 113 CGCTTGAACTCGAACAATTGAAGA

SEQ ID NO: 114 GCTTGAACTCGAACAATTGAAG

SEQ ID NO: 115 CGCTTGAACTCAAACAATTGAAGA

30 SEQ ID NO: 116 GCTTGAACTCAAACAATTGAAG

SNP30 NAT2 K268R

SEQ IDNO: 117 AAGAAGTGCTGAAAAATATATTTAA

SEQ IDNO: 118 TTAAATATATTTTTCAGCACTTCTT

SEQ ID NO: 119 AAGAAGTGCTGAGAAATATATTTAA

35 SEQ ID NO: 120 TTAAATATATTTCTCAGCACTTCTT

SNP31 NAT2 G286E

SEQ ID NO: 121 AACCTGGTGATGGATCCCTTACTAT

SEQ ID NO: 122 ACCTGGTGATGGATCCCTTACTA

SEQ ID NO: 123 AACCTGGTGATGAATCCCTTACTAT

5 SEQ ID NO: 124 ACCTGGTGATGAATCCCTTACTA

SNP32 NOS3 -786 T>C

SEQ ID NO: 125 TCTTCCCTGGCTGGCTGACCCTG

SEQ ID NO: 126 CAGGGTCAGCCAGCCAGGGAAGA

SEQ ID NO: 127 TCTTCCCTGGCCGGCTGACCCTG

10 SEQ ID NO: 128 CAGGGTCAGCCGGCCAGGGAAGA

SNP33 NOS3 E298D

SEQ ID NO: 129 GCCCCAGATGAGCCCCCAGAACT

SEQ ID NO: 130 AGTTCTGGGGGCTCATCTGGGGC

SEQ ID NO: 131 GCCCCAGATGATCCCCCAGAACT

15 SEQ ID NO: 132 AGTTCTGGGGGATCATCTGGGGC

SNP34 NPY L7P

SEQ ID NO: 133 CGGACAGCCCCAGTCGCTTGTTA

SEQ ID NO: 134 TAACAAGCGACTGGGGCTGTCCG

SEQ ID NO: 135 CGGACAGCCCCGGTCGCTTGTTA

20 SEQ ID NO: 136 TAACAAGCGACCGGGGCTGTCCG

SNP35 OGG1 C326S

SEQ ID NO: 137 CCTGCGCCAATCCCGCCATGCTC

SEQ ID NO: 138 CTGCGCCAATCCCGCCATGCT

SEQ ID NO: 139 CCTGCGCCAATGCCGCCATGCTC

25 SEQ ID NO: 140 CTGCGCCAATGCCGCCATGCT

SNP36 SOD2 A16V

SEQ ID NO: 141 GATACCCCAAAGCCGGAGCCAGC

SEQ ID NO: 142 ATACCCCAAAGCCGGAGCCAG

SEQ ID NO: 143 GATACCCCAAACCGGAGCCAGC

30 SEQ ID NO: 144 ATACCCCAAACCGGAGCCAG

1.3. Producción del ADN-chip para la determinación de polimorfismos en genes relacionados con deportes de resistencia y potencia: Impresión y procesamiento de los portaobjetos de vidrio

35 Las sondas capaces de detectar las distintas variantes génicas identificadas previamente se imprimieron en el soporte (portaobjetos de cristal) aminosilanizado empleando dimetilsulfóxido (DMSO) como tampón de impresión. La impresión se llevó a cabo con un *spotter* o impresor de oligonucleótidos (sondas) controlando la temperatura y la humedad relativa.

La unión de las sondas al soporte se llevó a cabo mediante entrecruzamiento con radiación ultravioleta y horneado tal y como se describe en la documentación aportada por el fabricante (por ejemplo, Corning Lifesciences

<http://www.corning.com>). La humedad relativa durante el proceso de depositado se mantuvo entre el 40-50% y la temperatura en torno a 20°C.

1.4. Validación de la utilidad predictiva del ADN-chip para la identificación de polimorfismos asociados a eventos deportivos de resistencia o potencia

1.4.1. Preparación de la muestra a hibridar

Se extrajo el ADN del individuo a partir de una muestra biológica (por ejemplo, sangre periférica, saliva, etc) mediante un protocolo convencional (por ejemplo, utilizando kits comerciales de Macherey Nagel, Qiagen, etc).

Se amplificaron todos los exones e intrones de interés mediante amplificación multiplex utilizando las parejas de oligonucleótidos cebadores apropiadas. Prácticamente puede utilizarse cualquier pareja de oligonucleótidos cebadores que permita la amplificación específica de fragmentos génicos en los que pueda existir el polimorfismo a detectar; ventajosamente, aquellas parejas que permitan dicha amplificación en el menor número posible de reacciones de amplificación. En particular, se seleccionaron unos oligonucleótidos cebadores que permitían amplificar en tan solo 3 reacciones de amplificación multiplex, los fragmentos necesarios para el genotipado de los 36 polimorfismos previamente mencionados. Cada reacción multiplex de PCR contenía 100 ng de ADN genómico junto con una mezcla maestra de PCR multiplex de Qiagen. La concentración de cebadores fue optimizada para cada amplificación.

Los oligonucleótidos cebadores utilizados para llevar a cabo la amplificación multiplex se diseñaron utilizando las secuencias de los genes correspondientes tal y como se describen en GenBank, usando el programa informático Primer 3 (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi).

Dichos oligonucleótidos cebadores utilizados para amplificar, mediante amplificación multiplex los polimorfismos correspondientes asociados a eventos deportivos de resistencia o potencia se describen en la **Tabla 3**:

Tabla 3

Oligonucleótidos cebadores utilizados

SNP01 ACE Intron 16 ins/del

SEQ ID NO: 145 GGGACTCTGTAAGCCACTGC

SEQ ID NO: 146 CCATGCCCATACAGGTCTT

SNP02 ACTN3 R577X

SEQ ID NO: 147 AGCTGACACTTCCTGCCTGT

SEQ ID NO: 148 GGGTGTAGTAGGGATTGGTG

SNP03 ADRB1 G389R

SEQ ID NO: 149 GCCTTCAACCCCATCATCTA

SEQ ID NO: 150 CAGGCTCGAGTCGCTGTC

SNP04 ADRB2 Q27E

SEQ ID NO: 151 GCTCACCTGCCAGACTGC

SEQ ID NO: 152 GCCAGGACGATGAGAGACAT

SNP05 ADRB2 G16R

SEQ ID NO: 153 GCTCACCTGCCAGACTGC

SEQ ID NO: 154 GCCAGGACGATGAGAGACAT

SNP06 ADRB3 W64R

SEQ ID NO: 155 CAATACCGCCAACACCACT

SEQ ID NO: 156 CGAAGTCACGAACACGTTG

SNP07 AGT M235T

SEQ ID NO: 157 GAACTGGATGTTGCTGCTGA

SEQ ID NO: 158 TTGCCTTACCTTGGAAGTGG

SNP08 NPY L7P

SEQ ID NO: 159 CTCTGCCTGGTGATGAGGTT

SEQ ID NO: 160 GCAGAGGAGGGAGGTGCT

5 **SNP09 APOA1 -75 G>A**

SEQ ID NO: 161 CACCTCCTTCTCGCAGTCTC

SEQ ID NO: 162 GGGACAGAGCTGATCCTTGA

SNP10 APOB R3480W

SEQ ID NO: 163 AGCCTCACCTCTTACTTTTCCATTGAGTC

10 SEQ ID NO: 164 CGTTGGTGAAAAAGAGGCCCTCTA

SNP11 APOB R3500Q

SEQ ID NO: 165 AGCCTCACCTCTTACTTTTCCATTGAGTC

SEQ ID NO: 166 CGTTGGTGAAAAAGAGGCCCTCTA

SNP12 APOB R3531C

15 SEQ ID NO: 167 AGCCTCACCTCTTACTTTTCCATTGAGTC

SEQ ID NO: 168 CGTTGGTGAAAAAGAGGCCCTCTA

SNP13 APOE C112R

SEQ ID NO: 169 CTGTCCAAGGAGCTGCAG

SEQ ID NO: 170 CTGTTCCACCAGGGGCCC

20 **SNP14 APOE R158C**

SEQ ID NO: 171 CTGTCCAAGGAGCTGCAG

SEQ ID NO: 172 CTGTTCCACCAGGGGCCC

SNP15 DSG2 R45Q

SEQ ID NO: 173 TGACACATAATAAATTTTGGCAAT

25 SEQ ID NO: 174 GGCAATTGGATTCTTCTTGG

SNP16 DSG2 R48H

SEQ ID NO: 175 TGACACATAATAAATTTTGGCAAT

SEQ ID NO: 176 GGCAATTGGATTCTTCTTGG

SNP17 DSG2 W305X

30 SEQ ID NO: 177 GCTTGAAGGGATGGTTGAAG

SEQ ID NO: 178 AAGGGTCACAATTCCTTCGTT

SNP18 DSG2 C506Y

SEQ ID NO: 179 CAACGACAACTGTCCCACAC

SEQ ID NO: 180 CTTGGCGTGCTATTTTCCAT

35 **SNP19 DSG2 G811C**

SEQ ID NO: 181 AAAGCGGCCTCTTACACTGA

SEQ ID NO: 182 TTTTGACCCAGGCAAACCTTC

SNP20 GNB3 825 C>T (S275S)

SEQ ID NO: 183 CTGCCGCTTGTTTGACCT

SEQ ID NO: 184 CACACGCTCAGACTTCATGG

5 **SNP21 GSTM1 presente>nulo**

SEQ ID NO: 185 ATGGTTTGCAGGAAACAAGG

SEQ ID NO: 186 AAAGCGGGAGATGAAGTCCT

SNP22 GSTP1 I105V

SEQ ID NO: 187 TGCTTCACGTGTTATGGAGGT

10 **SNP23 GSTP1 A114V**

SEQ ID NO: 189 GCAAGCAGAGGAGAATCTGG

SEQ ID NO: 190 CTCACCTGGTCTCCACAAT

SNP24 GSTT1 presente>nulo

15 **SNP25 IL6 -174 C>G**

SEQ ID NO: 191 GGCAGCATAAGCAGGACTTC

SEQ ID NO: 192 CTGCAGTTGCTCGAGGACAA

SEQ ID NO: 193 GCCTCAATGACGACCTAAGC

SEQ ID NO: 194 TCATGGGAAAATCCCACATT

20 **SNP26 NAT2 R64Q**

SEQ ID NO: 195 CCATGGAGTTGGGCTTAGAG

SEQ ID NO: 196 CCATGCCAGTGCTGTATTTG

SNP27 NAT2 282 C>T

SEQ ID NO: 197 CCATGGAGTTGGGCTTAGAG

25 **SNP28 NAT2 I114T**

SEQ ID NO: 199 CCATGGAGTTGGGCTTAGAG

SEQ ID NO: 200 CCATGCCAGTGCTGTATTTG

SNP29 NAT2 481C>T

30 **SNP30 NAT2 R197Q**

SEQ ID NO: 201 CAGGTGCCTTGCATTTTCT

SEQ ID NO: 202 GATGAAGCCCACCAAACAGT

SEQ ID NO: 203 CAGGTGCCTTGCATTTTCT

SEQ ID NO: 204 GATGAAGCCCACCAAACAGT

35 **SNP31 NAT2 K268R**

SEQ ID NO: 205 AAAGACAATACAGATCTGGTCGAG

SEQ ID NO: 206 TCTTCAAAATAACGTGAGGGTAGA

SNP32 NAT2 G286E

SEQ ID NO: 207 AAAGACAATACAGATCTGGTCGAG

SEQ ID NO: 208 TCTTCAAAATAACGTGAGGGTAGA

5 **SNP33 NOS3 -786 T>C**

SEQ ID NO: 209 GTGTACCCACCTGCATTCT

SEQ ID NO: 210 CCCACCCTGTCATTCACTG

SNP34 NOS3 E298D

SEQ ID NO: 211 GAAGGCAGGAGACAGTGGAT

10 SEQ ID NO: 212 CAGTCAATCCCTTTGGTGCT

SNP35 OGG1 C326S

SEQ ID NO: 213 TAGTCTCACCAGCCCTGACC

SEQ ID NO: 214 TGGGGAATTTCTTTGTCCAG

SNP36 SOD2 A16V

15 SEQ ID NO: 215 GGCTGTGCTTTCTCGTCTTC

SEQ ID NO: 216 CCGTAGTCGTAGGGCAGGT

20 Las amplificaciones multiplex se llevaron a cabo simultáneamente bajo las mismas condiciones de tiempo y temperatura que permitieron la amplificación específica de los fragmentos de los genes en existía el polimorfismo a detectar. En concreto, las condiciones fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 15 minutos a 95°C, seguida de 45 ciclos de desnaturalización de 30 segundos a 94°C, anillamiento de cebadores a 62°C durante 90 segundos y elongación (extensión) a 72°C durante 10 minutos.

A continuación, la muestra a hibridar (producto de la amplificación) se sometió a fragmentación con una ADNasa y los productos resultantes del proceso de fragmentación se sometieron a una reacción de marcaje por fluorescencia.

25 Antes de aplicar la muestra sobre el ADN-chip se procedió a desnaturalizar la muestra mediante calentamiento a 95°C durante 5 minutos y, posteriormente, se añadió el tampón de hibridación "ChipMap Kit Hybridization Buffer" (Ventana Medical System).

1.4.2. Hibridación

30 La hibridación se llevó a cabo de forma automática en la estación de hibridación Ventana Discovery (Ventana Medical Systems).

35 Se realizó una prehibridación o bloqueo del portaobjetos con BSA. A continuación, se aplicó la muestra junto con la solución de hibridación [ChipMap Kit Hybridization Buffer (Ventana Medical System)] y se mantuvo durante 1 hora a 42 °C siguiendo el protocolo Ventana 9.0 Europe (Ventana Medical System). Finalmente, el portaobjetos se somete a la acción de diferentes soluciones de lavado [ChipMap hybridisation Kit Buffers (Ventana Medical System)]. Una vez finalizado el proceso de hibridación se procede al lavado final y secado del portaobjetos.

Finalizada la hibridación, el revelado con estreptavidina-Cy3 marcó los puntos (sondas) en los que se produjo la hibridación.

1.4.3. Escaneado del portaobjetos

40 Se introdujo el portaobjetos en el escáner de fluorescencia confocal, por ejemplo Scan Array 4000 de Perkin Elmer, y se procedió a escanear la señal emitida por el marcaje estándar al ser excitado por el láser.

1.4.4. Cuantificación de la imagen

Un nuevo programa informático se utilizó para convertir la intensidad de los puntos donde se había producido la hibridación en genotipo concreto de SNP.

1.4.5. Interpretación estadística de los resultados

Se utilizó la selección de variables para identificar las características más importantes y predictivas en el modelo a analizar: probabilidad de comportamiento óptimo en relación a acontecimientos de potencia frente a resistencia. La aproximación más simple del filtrado de variables se basa en la asociación marginal entre cada variable (SNP o variable clínica) y el fenotipo. Las variables se filtran típicamente en base al valor de corte p a partir de análisis univariante.

Previo al análisis univariante en todas las covariantes potenciales, éstas se filtraron con el fin de reducir el número de pruebas necesitadas para eliminar datos que no son informativos. El programa informático "Helix tree" (Golden Helix, Inc., Bozeman, MT, USA) se utilizó para calcular la asociación alélica entre los diferentes grupos y las desviaciones a partir del equilibrio Hardy-Weinberg (HWE). El mismo programa informático se utilizó para calcular el valor D para el desequilibrio de ligamiento entre los SNPs. Con el fin de filtrar los SNPs incluidos en los análisis, se eliminaron del estudio aquellos SNPs que eran monomórficos y aquellos con frecuencia del alelo menor por debajo del 5%. Asimismo, cuando se observaba un desequilibrio de ligamiento completo entre los SNPs, sólo se incluían en el modelo de regresión aquellos con el valor de p más pequeño para la asociación alélica. Se utilizó el método de Bonferroni para corrección por test múltiple (Shaffer, J. P. Multiple Hypothesis Testing. Ann. Rev. Psych. 46, 561–584, 1995), pero no se encontraron asociaciones significativas bajo dichas condiciones rigurosas. Todos los factores de riesgo univariantes a un nivel de $p < 0.05$ se incluyeron en los análisis multivariantes por regresión logística.

Las asociaciones genotipo-fenotipo se analizaron por medio de análisis multivariante por regresión logística utilizando SPSS v17.0 (SPSS Inc. Headquarters, Chicago, IL, USA). La bondad de ajuste del modelo se evaluó utilizando la estadística Hosmer-Lemeshow y la precisión se evaluó calculando el área bajo la curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) con un intervalo de confianza del 95%. Para medir el impacto de los SNPs incluidos en los modelos de los fenotipos analizados, se analizaron por medio de la curva ROC, la sensibilidad, especificidad y la razón de probabilidad positiva ($LR+ = \text{sensibilidad} / (1 - \text{especificidad})$).

Para describir la contribución relativa de cada factor predictivo para predecir el comportamiento óptimo, se construyó un diagrama de sectores χ^2 (Brown et al., 2008. American Heart Journal; 155(2):260-266). Para determinar el valor χ^2 que contribuye a cada valor predictivo, el modelo predictivo se calculó eliminando un factor predictivo. El modelo reducido χ^2 se recogió para cada factor, de manera que cada factor χ^2 se sustrajo a partir del modelo completo χ^2 para determinar su contribución porcentual.

1.5. Resultados y discusión

1.6.

1.6.1. Selección de SNPs

Se estudiaron en el ADN-chip 36 polimorfismos localizados en 20 genes diferentes (**Tabla 1**). Siete SNPs eran monomórficos en la población estudiada (SNPs 9 y 11 y 14-18). Estos 7 polimorfismos se excluyeron antes de realizar el análisis univariante. Por tanto, finalmente se incluyeron en los análisis 29 SNPs.

1.6.2. Selección de variables para inclusión en el modelo

Las asociaciones entre fenotipos, atletas de resistencia frente a atletas de potencia se comprobaron para cada SNP. Seis polimorfismos mostraban asociación alélica (**Tabla 4**), y esta asociación se mantenía cuando se comparaban las frecuencias genotípicas. Desafortunadamente, cuando se aplicaban correcciones múltiples, ningún SNP alcanzaba significancia en las comparaciones. Estos seis SNPs se seleccionaron para análisis multivariante: 3 SNPs en el gen NAT2, 1 SNPs en el gen NOS3, 1 SNPs en el gen ACTN3 y 1 SNPs en el gen IL6.

1.6.3. Selección de variables para inclusión en el modelo

Las asociaciones entre fenotipos, atletas de resistencia frente a atletas de potencia se comprobaron para cada SNP. Seis polimorfismos mostraban asociación alélica (**Tabla 4**), y esta asociación se mantenía cuando se comparaban las frecuencias genotípicas. Desafortunadamente, cuando se aplicaban correcciones múltiples, ningún SNP alcanzaba significancia en las comparaciones. Estos seis SNPs se seleccionaron para análisis multivariante: 3 SNPs en el gen NAT2, 1 SNPs en el gen NOS3, 1 SNPs en el gen ACTN3 y 1 SNPs en el gen IL6.

Tabla 4
Análisis multivariante por regresión logística para predecir comportamiento atlético

		Genotipos, n(%)		Frecuencia alelos		Test alelo		
SNPs	Variante	Resistencia	Potencia	Resistencia	Potencia	Chi-cuad.	Chi-cuad. Bonf. P	5
NOS3 - 786T/C	-786 T/T	33 (33)	30(57)	f(T)				
	-786 T/C	40(40)	15(28)	f(C)	0,53	0,71	0,003	0,077
	-786 C/C	27(27)	8(15)		0,47	0,29		10
ACTN3 R577X	R577R	25(25)	30 (57)					
	R577X	46(46)	15(28)	f(K)	0,48	0,65	0,004	0,125
	X577X	29(29)	8 (15)	f(R)	0,52	0,35		
NAT2 803A/G (K268R)	K268K	43(43)	10(19)	f(A)	0,64	0,47		15
	K268R	42(42)	30(57)	f(G)	0,37	0,53	0,005	0,131
	R268R	15(15)	13(24)					
NAT2 481C/T	C481C	43(43)	12(23)	f(C)	0,64	0,49		
	C481T	41(41)	28(52)	f(T)	0,37	0,51	0,008	0,223
	T481T	16(16)	13(25)					20
IL6 -174G/C	-174G/G	42(42)	34(65)	f(G)	0,64	0,77		
	-174G/C	43(43)	14(26)	f(C)	0,37	0,23	0,013	0,382
	-174G/G	15(15)	5(9)					
NAT2 341T/C (I114T)	T341T	42(42)	11(21)	F(T)	0,63	0,47		
	T341C	42(42)	28(53)	f(C)	0,37	0,53	0,015	0,426
	C341C	16(16)	14(26)					25

1.6.4. Modelo para predecir el comportamiento atlético

Se generó una función de regresión de probabilidad utilizando el programa SPSSv17, incluyendo la variable "comportamiento deportivo" como una variable dependiente (el grupo de atletas de resistencia [1] frente al grupo de atletas de potencia [0]), y los 6 SNPs seleccionados en el paso de selección de variables como variables independientes. La selección de variables escalonada incluía 3 SNPs, y el modelo basado en estos valores predictivos se ajustaban bien a los datos (Hosmer y Lemeshow valor χ^2 del test de probabilidad = 0,84). El modelo multivariante combinando datos genotípicos predecía significativamente el comportamiento deportivo (modelo $\chi^2 = 25,8$; d.f.=6; valor de probabilidad <0,001). Los valores predictivos y coeficientes β del modelo se indican en la **Tabla 5**. Los valores predictivos fueron los siguientes: -786C/T en el gen NOS3, -174C/G en el gen IL6, y 803A/G (K268R) en el gen NAT2. Además de esto, se calculó la contribución relativa de la capacidad predictiva de todos los factores asociados en el modelo multivariante (**Figura 1**). Como medida del test de comportamiento, la función de probabilidad y la curva ROC obtenida presentaba un área bajo la curva (AUC) de 0,73 (95% CI: 0,65-0,81).

La contribución de los factores genéticos en los fenotipos de comportamiento estudiados es limitada, tal y como se demuestra por la proporción de varianza explicada por la función (Nagelkerke's pseudo- $R^2 = 0,214$).

Tabla 5 Análisis multivariante por regresión logística para predecir comportamiento atlético					
Predictivos	Comparación	β Coeficiente	OR	95% I.C.	p
NOS3-786T/C	TC+CC vs TT	1,144	3,138	1,496-6,584	0,002
IL6 -174G/C	GC+CC vs GG	0,911	2,486	1,195-5,172	0,015
NAT2 803A/G(K268R)	AA vs AG+GG	1,304	3,685	1,587-8,554	0,002

Abreviaturas: OR: Odds Ratio; I.C.: Intervalo de confianza

1.6.5. Discusión

En este estudio, se ha desarrollado un modelo, basado en los polimorfismos de ADN o SNPs identificados por el ADN-chip de la invención. Este modelo predictivo ha podido identificar subgrupos de atletas que se comportan mejor en deportes de resistencia o de potencia y ayudará a los expertos a escoger el campo para obtener los mejores resultados en competiciones de élite.

Cuando se evalúan las diferencias en las frecuencias alélicas entre los atletas de resistencia y potencia, se encontraron 6 SNPs significativamente asociados. Éstos corresponden con genes que son representativos de fenotipos hemodinámicos de respuesta al entrenamiento físico (NOS3); actividad física (ACTN3); distribución de la grasa corporal (IL6) y defensa antioxidante (NAT2). La variante de NOS3 parece estar en el límite de la significancia tras la corrección por el test múltiple ($P=0,077$). Después de que estos 6 SNPs se analizan por análisis multivariante, tres de ellos parecen relevantes en el modelo predictivo descrito: -786T/C en NOS3, -174G/C en IL6 y 803A/G (K268R) en NAT2.

La variante -786T/C representa un SNP que se localiza dentro de la región promotora de la enzima óxido nítrico sintasa 3 (NOS3), enzima que cataliza la síntesis de óxido nítrico y participa en el mantenimiento del tono vascular basal. En los atletas, el óxido nítrico es muy importante, ya que dentro de su función fisiológica está la de mediar en la dilatación de los vasos sanguíneos e incrementar la llegada de sangre a la masa muscular, suponiendo una mejor oxigenación y nutrición de los músculos, y por lo tanto, el rendimiento, como la energía, la congestión muscular, la capacidad de recuperación y la expresión de fuerza se ven totalmente amplificadas bajo sus efectos (Data et al., 2003; Med. Sci. Sports Exerc. 35:1991-1997). En la presente invención, el comportamiento óptimo para eventos de resistencia estaba asociado con el alelo C de dicho polimorfismo.

La variante -174G/C del gen Interleuquina 6 (IL6) está relacionada con los niveles de IL6, en concreto con un aumento en los niveles, que ha sido asociado con un aumento en el índice de masa corporal, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia e hipertensión arterial (Halverstadt et al., 2005; Biochim. Biophys. Acta 1734:143-151). En la presente invención, el comportamiento óptimo para eventos de resistencia estaba asociado con el alelo C de dicho polimorfismo.

En cuanto a la variante 803A/G (K268R) en el gen NAT2, NAT2 se seleccionó para introducir en el "array" debido a que es una enzima polimórfica que activa las aminas aromáticas heterocíclicas y las N-nitrosaminas carcinogénicas. Serán factores importantes relacionados con la producción de radicales libres la presencia de una enzima importante en detoxificación, así como la intensidad y duración del ejercicio. En el presente estudio, se han encontrado homocigotos para el alelo A, asociados a eventos de resistencia. Aún se conoce poco sobre la relación de dichas enzimas y deporte, pero estudiar los genes implicados en las vías de detoxificación abre una nueva línea para entender la manera en la que estos genes contribuyen a los procesos de homeostasis en el deporte.

Hasta el momento no se han desarrollado modelos predictivos para evaluar la probabilidad de ser un atleta de resistencia o de potencia, basándose en los antecedentes genéticos. En el presente estudio, se describe una nueva manera de evaluar el diferente comportamiento de atletas de resistencia o potencia. El nuevo modelo desarrollado combina marcadores genéticos (SNPs) para predecir el comportamiento atlético. Dichos SNPs ya estaban relacionados previamente con la capacidad física para llevar a cabo competiciones en un deporte, sin embargo, el presente método demuestra su utilidad como elementos predictivos de comportamiento físico, tal como indica el valor de la razón de probabilidad positiva (LR+). LR+ es una manera precisa y práctica de expresar la potencia de las pruebas diagnósticas y también puede ser de utilidad en el presente estudio como método para evaluar el comportamiento atlético. El uso de la versión del teorema de Bayes de la razón de probabilidad ha sido recomendado para calcular probabilidades posteriores individuales (Fagan TJ; (Letter) N Engl J Med 1975; 293:257-261). La ROC-AUC obtenida para este modelo ($>0,7$) proporciona evidencia del poder discriminatorio para predecir el comportamiento atlético de la combinación de elementos predictivos utilizados. La utilidad de la magnitud ROC-AUC como herramienta para evaluar la fuerza de la relación entre los elementos predictivos y enfermedad se ha descrito previamente, pero no en este campo.

Utilizando estos SNPs (NOS3 -786 T/C, IL6 -174 G/C y NAT2 803A/G (K268R)) para obtener el perfil genético del atleta proporciona una herramienta extra para los expertos en medicina deportiva y ciencia del ejercicio. El nuevo modelo podría ayudar a identificar atletas que podrían comportarse mejor en una especialidad deportiva o en otra.

5 1.7. Asociación del polimorfismo Trp64Arg del gen ADRB3 con deportes de resistencia

1.7.1. Métodos

10 La población estudiada fue la misma que en el apartado 1.1, añadiendo 100 varones sanos no atléticos como controles. Por tanto, se disponía de tres grupos: (i) varones sanos no atléticos; (ii) 100 atletas de resistencia varones que compitieron durante los últimos diez años (edad, 20-39 años; 50 eran corredores mundiales de tipo resistencia, incluyendo campeones europeos y finalistas olímpicos, y 50 ciclistas profesionales, que fueron finalistas del "tour" de Francia); y (iii) 53 atletas de potencia varones (40 atletas en lo más alto a nivel nacional y 13 a nivel olímpico) que también compitieron durante los últimos diez años (edad, 20-33 años, saltadores, lanzadores y corredores de velocidad). La muestra se obtuvo a partir de muestras de saliva o sangre utilizando para su análisis el mismo ADN-chip descrito en el apartado 1.2. Se compararon el genotipo y la frecuencia alélica para cada polimorfismo entre los tres grupos de población descritos con el test χ^2 con un α fijado a 0,05 y ajustado para comparaciones múltiples.

1.7.2. Resultados y discusión

20 Todas las distribuciones de genotipos en los sujetos estudiados estaban en equilibrio Hardy-Weinberg, excepto la variante Q27E del gen ADRB2 en el grupo de atletas de resistencia. La **Tabla 6** muestra el genotipo y las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados en los tres grupos de estudio. No se observaron diferencias significativas en el genotipo y las frecuencias alélicas entre los tres grupos, excepto en el polimorfismo W64R del gen ADRB3, en el que se veían diferencias entre los controles y los atletas de resistencia.

25 El principal hallazgo fue que la heterocigosidad para el polimorfismo W64R en el gen ADRB3 estaba asociada con el comportamiento de los atletas de resistencia, siendo los portadores del alelo minoritario Arg (C) y la frecuencia del alelo C mayor en los atletas mundiales de resistencia que en los controles. Hay que señalar que se encontró una tendencia similar cuando se comparó la frecuencia de los alelos C en atletas de resistencia y de potencia, aún sin haber llegado a significancia estadística. Sólo dos de los sujetos (atletas de potencia) tenían el genotipo raro CC. Sin embargo, las otras variantes de los genes β ARs (ADRB1 R389G, y ADRB2 G16R y Q27E) no estaban asociados con eventos deportivos en el análisis.

30 El polimorfismo G16R del gen ADRB2 se había asociado previamente con eventos de resistencia en deportistas de élite, con el alelo Gly (G) ejerciendo un efecto desfavorable (Wolfarth B et al. Metabolism 2007; 56:1649-51). Sin embargo, ahora se ha observado que la frecuencia del alelo G no difería significativamente en controles y atletas de resistencia (**Tabla 6**). Las diferencias en los resultados actuales y los previos podrían deberse al diferente origen de los sujetos (norteamericanos, finlandeses y alemanes caucásicos frente a españoles caucásicos) o a la especialidad deportiva de resistencia.

Tabla 6 Genotipo y frecuencias alélicas en los tres grupos de estudio: individuos control (n=100), atletas de élite de resistencia (n=100) y atletas de élite de potencia (n=53)

Polimorfismo	Genotipo/ Alelo	Controles (C)	Resistencia (E)	Potencia (P)	Valor P global	Valor P C vs E	Valor P C vs P	Valor P vs P	E
ADRB1 Arg389Gly (rs1801253)	CC	43	48	40	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
	CG	47	47	47					
	GG	10	5	13					
	p(C)	0,77	0,72	0,63	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
	q(G)	0,23	0,28	0,36					
ADRB2 Gly16Arg (rs1042713)	GG	34	36	43	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
	GA	40	42	42					
	AA	26	22	15					
	p(G)	0,54	0,57	0,64	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
	q(A)	0,46	0,43	0,36					
ADRB2 Gln27Glu (rs1042714)	CC	48	50	49	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
	CG	38	35	38					
	GG	14	15	13					
	p(C)	0,67	0,67	0,68	>0,1	>0,1	>0,1	>0,1	
	q(G)	0,33	0,33	0,32					
ADRB3 Trp64Arg (rs4994)	TT	92	73	81	0,003	<0,001	>0,05	>0,1	
	TC	8	27	17					
	CC	0	0	2					
	p(T)	0,96	0,86	0,90	0,004	0,001	>0,05	>0,1	
	q(C)	0,04	0,14	0,10					

5 El alelo minoritario Arg (C) en el codón 64 de ADRB3 estaba claramente sobre-representado en
corredores mundiales y ciclistas comparado con individuos control. La asociación mencionada en el polimorfismo
W64R del gen ADRB3 y los eventos deportivos de resistencia pueden ser explicados por los numerosos efectos que
10 β 3AR ejerce en los tejidos del cuerpo humano, en concreto del tejido adiposo y especialmente del corazón (Gauthier
C et al. J Clin Invest 1996; 98: 556-62). El β 3AR estimula la lipólisis y la termogénesis. Además de regular la
angiogénesis y la vasorelajación en la microvasculatura coronaria, β 3ARs pueden tener un efecto inotrópico (Rozec
B et al. Ther 2006; 111(3):652-73). Por tanto, el polimorfismo W64R del gen ADRB3, que está asociado con una
15 actividad con una reducida actividad *in vitro* adenilato ciclasa estimulada por agonistas, podría favorecer la
contracción miocárdica, por ejemplo, estimulando el inotropismo cardíaco. Esto podría explicar, al menos
parcialmente, un cierto efecto negativo en el alelo minoritario C sobre eventos de resistencia.

Este tipo de estudios están, sin embargo, limitados por múltiples factores. Principalmente, el tipo de
diseño del presente ensayo no permite determinar los cambios que los factores únicos ambientales de los
deportistas pueden inducir en la expresión génica durante periodos críticos del desarrollo prenatal y postnatal, tal
15 como mecanismos epigenéticos. Los efectos de los mecanismos epigenéticos en la expresión génica son
probablemente más importantes que los polimorfismos genéticos per se. Finalmente, habría otras variantes génicas,
aún por determinar, que podrían ejercer interacciones complejas con los genes candidatos estudiados en la presente
invención.

REIVINDICACIONES

1. Método para evaluar el comportamiento atlético de un sujeto, que comprende:
 - (i) determinar el genotipo de los polimorfismos NOS3 -786T/C, IL6 -174G/C y NAT2 803A/G; y
 - (ii) evaluar si dicho sujeto tiene mayor predisposición a deportes de resistencia y/o de potencia, a la vista de dicho genotipo.
2. Método según la reivindicación 1, en el que dicha etapa (i) se realiza mediante análisis de ADN-chips, genotipado en micropartículas (*array* líquido), análisis RFLP y/o secuenciación génica.
3. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, que comprende además determinar la presencia o ausencia de un polimorfismo en un gen seleccionado del grupo formado por los genes ACE, ACTN3, ADRB1, ADRB2, ADRB3, AGT, APOA1, APOB, APOE, DSG2, GNB3, GSTM1, GSTP1, GSTT1, NPY, OGG1, SOD2 y combinaciones de los mismos.
4. Método según la reivindicación 3, en el que los polimorfismos a determinar en dichos genes se seleccionan del grupo listado en la Tabla 1.
5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la presencia del genotipo -786 C/C o del genotipo -786 T/C en el gen NOS3 de dicho sujeto está asociada con un mejor comportamiento atlético en deportes de resistencia, y la presencia del genotipo -786 T/T en el gen NOS3 está asociada con un mejor comportamiento atlético en deportes de potencia.
6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la presencia del genotipo 803A/A en el gen NAT2 de dicho sujeto está asociada con un mejor comportamiento atlético en deportes de resistencia, y la presencia del genotipo 803G/G o del genotipo 803A/G en el gen NAT2 está asociada con un mejor comportamiento atlético en deportes de potencia.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la presencia del genotipo -174 C/C o del genotipo -174 G/C en el gen IL6 de dicho sujeto está asociada con un mejor comportamiento atlético en deportes de resistencia, y la presencia del genotipo -174G/G en el gen IL6 está asociada con un mejor comportamiento atlético en deportes de potencia.
8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la determinación del genotipo se lleva a cabo mediante un proceso que comprende:
 - a) proporcionar, por cada genotipo a determinar al menos 2 parejas de oligonucleótidos, en el que:
 - una de las parejas consiste en las sondas 1 y 2, y la otra pareja de sondas en las sondas 3 y 4;
 - una de las sondas de cada una de dichas parejas de sondas reconoce de manera específica la variante A del SNP a determinar y la otra reconoce de manera específica la variante B de cada uno de los SNPs a determinar;
 - cada sonda está presente en réplicas; y
 - cada réplica de cada sonda está unida a un soporte sólido;
 - b) amplificar enzimáticamente las regiones diana de los genes a analizar que contienen los polimorfismos a detectar y marcar los productos de dicha amplificación que comprenden las regiones diana que contienen los polimorfismos a detectar;
 - c) poner en contacto dichas regiones diana con dichas sondas bajo condiciones que permiten una adecuada hibridación y formación de complejos de hibridación ácido nucleico-sonda;
 - d) determinar la intensidad de marcaje de cada réplica para obtener unos valores brutos de intensidad;
 - e) opcionalmente, corregir los valores brutos de intensidad para obtener un valor corregido para cada réplica; y
 - f) aplicar un algoritmo a los valores brutos de intensidad determinados en la etapa d), o corregidos en la etapa e), y determinar el genotipo respecto a cada variante génica, en el que la aplicación del algoritmo implica el cálculo de una intensidad media de cada réplica de cada sonda y en el que el algoritmo emplea funciones lineales que caracterizan cada uno de los posibles genotipos: AA, AB o BB para cada variante génica.
9. Un ADN chip que comprende un soporte sobre el que están depositadas al menos:
 - (i) un conjunto de sondas formado por las sondas identificadas como SEQ ID NO: 93, SEQ ID NO: 94, SEQ ID NO: 95 y SEQ ID NO: 96, para la detección del polimorfismo IL6 -174G/C;
 - (ii) un conjunto de sondas formado por las sondas identificadas como SEQ ID NO: 117, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119 y SEQ ID NO: 120, para la detección del polimorfismo NAT2 803A/G; y

- (iii) un conjunto de sondas formado por las sondas identificadas como SEQ ID NO: 125, SEQ ID NO: 126, SEQ ID NO: 127 y SEQ ID NO: 128, para la detección del polimorfismo NOS3 -786T/C.
10. Un kit que comprende un ADN chip según la reivindicación 9, y, además, instrucciones para su empleo.
- 5 11. Un kit de amplificación mediante PCR que comprende al menos:
- (i) la pareja de oligonucleótidos cebadores formada por los oligonucleótidos identificados como SEQ ID NO: 193 y SEQ ID NO: 194, para la amplificación de una región que comprende el polimorfismo del gen IL6 - 174C/G;
- 10 (ii) la pareja de oligonucleótidos cebadores formada por los oligonucleótidos identificados como SEQ ID NO: 205 y SEQ ID NO: 206 para la amplificación de una región que comprende el polimorfismo del gen NAT2 803A/G; y
- 15 (iii) la pareja de oligonucleótidos cebadores formada por los oligonucleótidos identificados como SEQ ID NO: 209 y SEQ ID NO: 210 para la amplificación de una región que comprende el polimorfismo del gen NOS3 - 786 T/C; y,
- opcionalmente, instrucciones para su empleo.

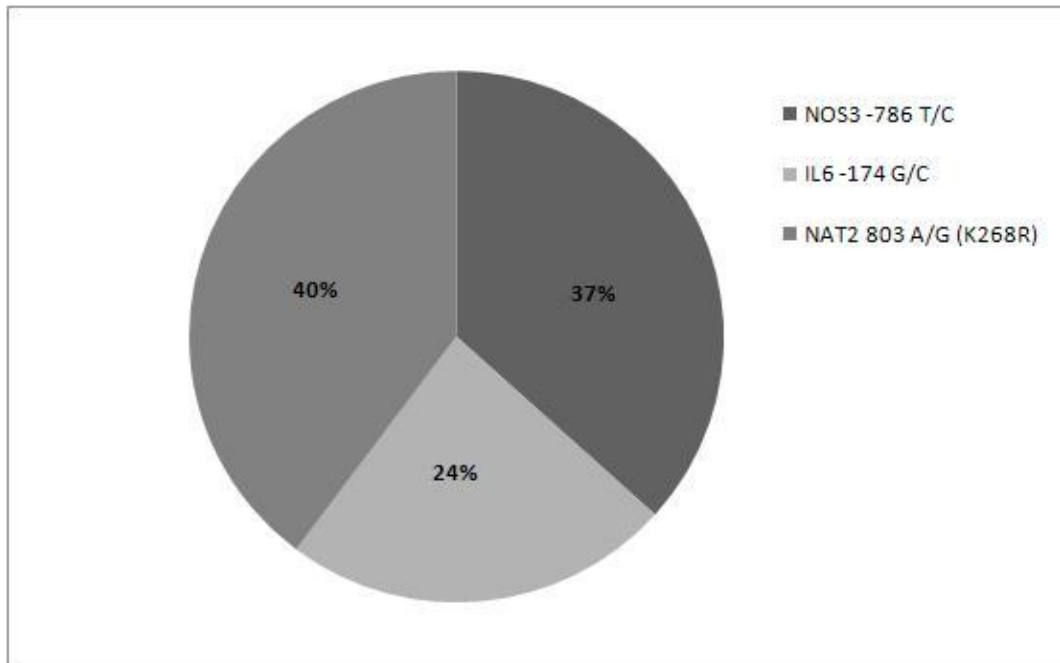


FIGURA 1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Progenika Biopharma, S.A.

5 <120> MÉTODO PARA LA EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO ATLÉTICO DE UN SUJETO

<130> P4944ESPC

<140> PCT/ES2010/070402

10 <141> 2010-06-16

<150> P200901439

<151> 2009-06-17

15 <160> 216

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

20 <211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

25 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Intron 16 ins/del en el gen
ACE

<400> 1

30 gattacaggc gtgatacagt cac 23

<210> 2

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

35 <220>

<223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Intron 16 ins/del en el gen
ACE

40 <400> 2

gtgactgtat cacgcctgta atc 23

<210> 3

<211> 23

45 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

50 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Intron 16 ins/del en el gen
ACE

<400> 3

agacctgctg cctatacagt cac 23

55 <210> 4

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial

60 <220>

<223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Intron 16 ins/del en el gen
ACE

<400> 4

65 gtgactgtat aggacgagg tct 23

<210> 5
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo R577X en el gen ACTN3
 <400> 5
 10 ccgaggctga ccgagagcga ggt 23
 <210> 6
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo R577X en el gen ACTN3
 20 <400> 6
 ccgaggctga ctgagagcga ggt 23
 <210> 7
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo R577X en el gen ACTN3
 30 <400> 7
 acctcgctct cggtcagcct cgg 23
 <210> 8
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo R577X en el gen ACTN3
 <400> 8
 acctcgctct cagtcagcct cgg 23
 45 <210> 9
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo ADRB1 G389R en el gen ADRB1
 <400> 9
 55 aggcctcca gcgactgctc tgc 23
 <210> 10
 <211> 23
 <212> DNA
 60 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo ADRB1 G389R en el gen ADRB1
 <400> 10
 65 gcagagcagt cgctggaagg cct 23

<210> 11
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo ADRB1 G389R en el gen ADRB1
 <400> 11
 10 aggccttcca gggactgctc tgc 23
 <210> 12
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo ADRB1 G389R en el gen ADRB1
 20 <400> 12
 gcagagcagt ccctggaagg cct 23
 <210> 13
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Q27E en el gen ADRB2
 30 <400> 13
 acgtcacgca ggaaagggac gag 23
 <210> 14
 <211> 21
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Q27E en el gen ADRB2
 <400> 14
 cgtcacgcag gaaagggacg a 21
 45 <210> 15
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Q27E en el gen ADRB2
 <400> 15
 55 acgtcacgca gcaaagggac gag 23
 <210> 16
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Q27E en el gen ADRB2
 <400> 16
 65 cgtcacgcag caaagggacg a 21

<210> 17
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo G16R en el gen ADRB2
 <400> 17
 10 tggcacccaa tagaagccat gcg 23
 <210> 18
 <211> 25
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo G16R en el gen ADRB2
 20 <400> 18
 ctggcaccca atagaagcca tgcgc 25
 <210> 19
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo G16R en el gen ADRB2
 30 <400> 19
 tggcacccaa tggaagccat gcg 23
 <210> 20
 <211> 25
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo G16R en el gen ADRB2
 <400> 20
 ctggcaccca atggaagcca tgcgc 25
 45 <210> 21
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo W64R en el gen ADRB3
 <400> 21
 55 tggccatcgc ctggactccg aga 23
 <210> 22
 <211> 23
 <212> DNA
 60 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo W64R en el gen ADRB3
 <400> 22
 65 tctcggagtc caggcgatgg cca 23

<210> 23
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo W64R en el gen ADRB3
 <400> 23
 10 tggccatcgc ccggactccg aga 23
 <210> 24
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo W64R en el gen ADRB3
 20 <400> 24
 tctcggagtc cgggcgatgg cca 23
 <210> 25
 <211> 27
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo M235T en el gen AGT
 30 <400> 25
 ggctgctccc tgacgggagc cagtgtg 27
 <210> 26
 <211> 27
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo M235T en el gen AGT
 <400> 26
 cacactggct cccgtcaggg agcagcc 27
 45 <210> 27
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo M235T en el gen AGT
 <400> 27
 55 ggctgctccc tgatgggagc cagtgtg 27
 <210> 28
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo M235T en el gen AGT
 <400> 28
 65 cacactggct cccatcaggg agcagcc 27

<210> 29
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo -75 G>A en el gen APOA1
 <400> 29
 10 agcccagccc cggccctgtt g 21
 <210> 30
 <211> 19
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo -75 G>A en el gen APOA1
 20 <400> 30
 gcccagcccc ggcctgtt 19
 <210> 31
 <211> 21
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo -75 G>A en el gen APOA1
 30 <400> 31
 agcccagccc tggccctgtt g 21
 <210> 32
 <211> 19
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo -75 G>A en el gen APOA1
 <400> 32
 gcccagccct ggcctgtt 19
 45 <210> 33
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo R3480W en el gen APOB
 <400> 33
 55 cggttcttc tcggaatat tca 23
 <210> 34
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo R3480W en el gen APOB
 <400> 34
 65 tgaatattcc cgagaaagaa ccg 23

5 <210> 35
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo R3480W en el gen APOB
 10 <400> 35
 cgggtcttc ttgggaatat tca 23
 <210> 36
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo R3480W en el gen APOB
 20 <400> 36
 tgaatattcc caagaaagaa ccg 23
 <210> 37
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Arg3500Gln en el gen APOB
 30 <400> 37
 caagagcaca cgggtcttcag tga 23
 <210> 38
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Arg3500Gln en el gen APOB
 <400> 38
 tcactgaaga ccgtgtgctc ttg 23
 45 <210> 39
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Arg3500Gln en el gen APOB
 <400> 39
 55 caagagcaca cagtcttcag tga 23
 <210> 40
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Arg3500Gln en el gen APOB
 <400> 40
 65 tcactgaaga ctgtgtgctc ttg 23

<210> 41
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Arg3531Cys en el gen APOB
 <400> 41
 10 ccacactcca acgcatatat tcc 23
 <210> 42
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Arg3531Cys en el gen APOB
 20 <400> 42
 ggaatatatg cggtggagtg tgg 23
 <211> 23
 <212> DNA
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Arg3531Cys en el gen APOB
 30 <400> 43
 ccacactcca atgcatatat tcc 23
 <210> 44
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Arg3531Cys en el gen APOB
 40 <400> 44
 ggaatatatg cattggagtg tgg 23
 <210> 45
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 50 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Cys112Arg en el gen APOE
 <400> 45
 atggaggacg tgtgcggccg cctgg 25
 55 <210> 46
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 60 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Cys112Arg en el gen APOE
 <400> 46
 65 ccaggcggcc gcacacgtcc tccat 25

5 <210> 47
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Cys112Arg en el gen APOE
 10 <400> 47
 atggaggacg tgcgcggccg cctgg 25
 <210> 48
 <211> 25
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Cys112Arg en el gen APOE
 20 <400> 48
 ccaggcggcc ggcacgtcc tccat 25
 <210> 49
 <211> 25
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Arg158Cys en el gen APOE
 30 <400> 49
 gacctgcaga agcgctggc agtgt 25
 <210> 50
 <211> 25
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Arg158Cys en el gen APOE
 <400> 50
 acactgccag gcgttctgc aggtc 25
 45 <210> 51
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Arg158Cys en el gen APOE
 <400> 51
 gacctgcaga agtcctggc agtgt 25
 55 <210> 52
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Arg158Cys en el gen APOE
 <400> 52
 65 acactgccag gcacttctgc aggtc 25

<210> 53
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo R45Q en el gen DSG2
 <400> 53
 10 catttagtgc ggcaaaagcg c 21
 <210> 54
 <211> 21
 <212> DNA
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo R45Q en el gen DSG2
 20 <400> 54
 catttagtgc agcaaaagcg c 21
 <210> 55
 <211> 19
 25 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo R45Q en el gen DSG2
 30 <400> 55
 atttagtgcg gcaaaagcg 19
 <210> 56
 <211> 19
 35 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo R45Q en el gen DSG2
 <400> 56
 atttagtgca gcaaaagcg 19
 45 <210> 57
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo R48H en el gen DSG2
 <400> 57
 55 cggcaaaagc gcgcctggat c 21
 <210> 58
 <211> 21
 <212> DNA
 60 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo R48H en el gen DSG2
 <400> 58
 65 cggcaaaagc acgcctggat c 21

5 <210> 59
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo R48H en el gen DSG2
 10 <400> 59
 gatccaggcg cgcttttgcc g 21
 <210> 60
 <211> 21
 <212> DNA
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo R48H en el gen DSG2
 20 <400> 60
 gatccaggcg tgcttttgcc g 21
 <210> 61
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo W305X en el gen DSG2
 30 <400> 61
 tctgataatt ggctggcaaa ttt 23
 <210> 62
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 40 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo W305X en el gen DSG2
 <400> 62
 tctgataatt gactggcaaa ttt 23
 45 <210> 63
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo W305X en el gen DSG2
 <400> 63
 ctgataattg gctggcaaat t 21
 55 <210> 64
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo W305X en el gen DSG2
 <400> 64
 65 ctgataattg actggcaaat t 21

<210> 65
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo C506Y en el gen DSG2
 <400> 65
 10 gcagacaatc tgcacgatg cag 23
 <210> 66
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo C506Y en el gen DSG2
 20 <400> 66
 gcagacaatc tatcacgatg cag 23
 <210> 67
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo C506Y en el gen DSG2
 30 <400> 67
 ctgcatcgtg acagattgtc tgc 23
 <210> 68
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo C506Y en el gen DSG2
 <400> 68
 ctgcatcgtg atagattgtc tgc 23
 45 <210> 69
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> artificial
 50 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo G811C en el gen DSG2
 <400> 69
 55 tgcttctatt ggtgttgca g 21
 <210> 70
 <211> 21
 <212> DNA
 60 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo G811C en el gen DSG2
 <400> 70
 65 tgcttctatt cggtgttgca g 21

<210> 71
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo G811C en el gen DSG2
 <400> 71
 10 gcttctattg gttgttgca 19
 <210> 72
 <211> 19
 <212> DNA
 15 <213> artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo G811C en el gen DSG2
 20 <400> 72
 gcttctattc gttgttgca 19
 <210> 73
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo 825 C>T (Ser275Ser) en el
 30 gen GNB3
 <400> 73
 ggcatcacgt ccgtggcctt ctc 23
 35 <210> 74
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo 825 C>T (Ser275Ser) en el
 gen GNB3
 <400> 74
 45 gagaaggcca cggacgtgat gcc 23
 <210> 75
 <211> 23
 <212> DNA
 50 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo 825 C>T (Ser275Ser) en el
 55 gen GNB3
 <400> 75
 ggcatcacgt ctgtggcctt ctc 23
 <210> 76
 60 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 65 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo 825 C>T (Ser275Ser) en el

gen GNB3

5 <400> 76
gagaaggcca cagacgtgat gcc 23

10 <210> 77
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

15 <220>
<223> sonda 1 para detectar el polimorfismo GSTM1

20 <400> 77
cacatattct tggccttctg cagat 25

25 <210> 78
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

30 <220>
<223> sonda 2 para detectar el polimorfismo GSTM1

35 <400> 78
atctgcagaa ggccaagaat atgtg 25

40 <210> 79
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

45 <220>
<223> sonda 3 para detectar el polimorfismo GSTM1

50 <400> 79
cacatattct tgaccttctg cagat 25

55 <210> 80
<211> 25
<212> DNA
<213> Artificial

60 <220>
<223> sonda 4 para detectar el polimorfismo GSTM1

65 <400> 80
atctgcagaa ggtcaagaat atgtg 25

70 <210> 81
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

75 <220>
<223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Ile105Val en el gen GSTP1

80 <400> 81
gctgcaaata catctccctc atc 23

85 <210> 82
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Ile105Val en el gen GSTP1
 <400> 82
 5 gatgagggag atgtatttc agc 23
 <210> 83
 <211> 23
 <212> DNA
 10 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Ile105Val en el gen GSTP1
 15 <400> 83
 gctgcaaata cgtctccctc atc 23
 <210> 84
 <211> 23
 20 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Ile105Val en el gen GSTP1
 25 <400> 84
 gatgagggag acgtatttc agc 23
 <210> 85
 <211> 23
 30 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 35 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Ala114Val en el gen GSTP1
 <400> 85
 ctggcaggag gcgggcaagg atg 23
 <210> 86
 <211> 21
 40 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 45 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Ala114Val en el gen GSTP1
 <400> 86
 50 atccttgccc gcctcctgcc a 21
 <210> 87
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 55 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Ala114Val en el gen GSTP1
 <400> 87
 60 ctggcaggag gtgggcaagg atg 23
 <210> 88
 <211> 21
 <212> DNA
 65 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Ala114Val en el gen GSTP1

<400> 88
 5 atccttgccc acctcctgcc a 21

<210> 89
 <211> 25
 <212> DNA
 10 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo GSTT1

<400> 89
 15 ctgcctagtg ggtcacctg cccac 25

<210> 90
 <211> 25
 20 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo GSTT1

<400> 90
 25 gtgggcaggt gaaccacta ggcag 25

<210> 91
 <211> 25
 30 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo GSTT1

<400> 91
 35 ctgcctagtg gggcacctg cccac 25

<210> 92
 <211> 25
 40 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo GSTT1

<400> 92
 45 gtgggcaggt gacccacta ggcag 25

<210> 93
 <211> 23
 50 <212> DNA
 <213> artificial

<220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo -174 C>G en el gen IL6

<400> 93
 60 ttgtgtcttg cgatgctaaa gga 23

<210> 94
 <211> 23
 65 <212> DNA

<213> artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo -174 C>G en el gen IL6
 5 <400> 94
 tcctttagca tcgcaagaca caa 23
 <210> 95
 10 <211> 23
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 15 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo -174 C>G en el gen IL6
 <400> 95
 ttgtgtcttg ccatgctaaa gga 23
 <210> 96
 20 <211> 23
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 25 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo -174 C>G en el gen IL6
 <400> 96
 30 tcctttagca tggcaagaca caa 23
 <210> 97
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo R64Q en el gen NAT2
 <400> 97
 40 accaccaccc ccggtttctt ctt 23
 <210> 98
 <211> 21
 <212> DNA
 45 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo R64Q en el gen NAT2
 50 <400> 98
 ccaccacccc cggtttctt t 21
 <210> 99
 <211> 23
 55 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo R64Q en el gen NAT2
 60 <400> 99
 accaccaccc ctggtttctt ctt 23
 <210> 100
 65 <211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo R64Q en el gen NAT2

 <400> 100
 ccacccaccc tggttcttc t 21

 10 <210> 101
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial

 15 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo 282 C>T en el gen
 NAT2

 <400> 101
 20 agggatattt tacatccctc cagtt 25

 <210> 102
 <211> 23
 <212> DNA
 25 <213> Artificial

 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo 282 C>T en el gen
 NAT2
 30
 <400> 102
 gggatattt acatccctcc agt 23

 <210> 103
 35 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 40 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo 282 C>T en el gen
 NAT2

 <400> 103
 45 agggatattt tataatccctc cagtt 25

 <210> 104
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo 282 C>T en el gen
 NAT2

 <400> 104
 55 gggatattt atatccctcc agt 23

 <210> 105
 <211> 23
 60 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo I114T en el gen NAT2
 65

<400> 105
 gcaggtgacc attgacggca gga 23
 <210> 106
 5 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 10 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo I114T en el gen NAT2
 <400> 106
 caggtgacca ttgacggcag g 21
 15 <210> 107
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo I114T en el gen NAT2
 <400> 107
 gcaggtgacc actgacggca gga 23
 25 <210> 108
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo I114T en el gen NAT2
 <400> 108
 35 caggtgacca ctgacggcag g 21
 <210> 109
 <211> 25
 <212> DNA
 40 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo 481C>T en el gen
 NAT2
 45 <400> 109
 ggaatctggt acctggacca aatca 25
 <210> 110
 50 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 55 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo 481C>T en el gen
 NAT2
 <400> 110
 60 aggaatctgg tacctggacc aatcag 27
 <210> 111
 <211> 25
 <212> DNA
 65 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo 481C>T en el gen NAT2

5 <400> 111
 ggaatctggt acttggacca aatca 25

<210> 112
 <211> 27
 10 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo 481C>T en el gen NAT2

15 <400> 112
 aggaatctgg tacttggacc aaatcag 27

<210> 113
 <211> 25
 20 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo R197Q en el gen NAT2

<400> 113
 cgcttgaacc tcgaacaatt gaaga 25

30 <210> 114
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial

35 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo R197Q en el gen NAT2

<400> 114
 40 gcttgaacct cgaacaattg aag 23

<210> 115
 <211> 25
 <212> DNA
 45 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo R197Q en el gen NAT2

<400> 115
 50 cgcttgaacc tcaaacaatt gaaga 25

<210> 116
 <211> 23
 55 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo R197Q en el gen NAT2

60 <400> 116
 gcttgaacct caaacaattg aag 23

<210> 117
 65 <211> 25

<212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo K268R en el gen NAT2

 <400> 117
 aagaagtgc taaaaatata ttaa 25

 10 <210> 118
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial

 15 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo K268R en el gen NAT2

 <400> 118
 20 ttaaataat ttttcagcac ttctt 25

 <210> 119
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial

 25 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo K268R en el gen NAT2

 <400> 119
 30 aagaagtgc gagaaatata ttaa 25

 <210> 120
 <211> 25
 <212> DNA
 35 <213> Artificial

 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo K268R en el gen NAT2

 40 <400> 120
 ttaaataat ttctcagcac ttctt 25

 <210> 121
 <211> 25
 45 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo G286E en el gen NAT2
 50
 <400> 121
 aacctggtga tggatccctt actat 25

 <210> 122
 55 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 60 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo G286E en el gen NAT2

 <400> 122
 acctggtgat ggatcccta cta 23

 65 <210> 123

<211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo G286E en el gen NAT2
 <400> 123
 aacctggtga tgaatccctt actat 25
 10 <210> 124
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo G286E en el gen NAT2
 <400> 124
 20 acctggtgat gaatcccta cta 23
 <210> 125
 <211> 23
 <212> DNA
 25 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo -786 T>C en el gen NOS3
 30 <400> 125
 tcttcctgg ctggctgacc ctg 23
 <210> 126
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo -786 T>C en el gen NOS3
 40 <400> 126
 caggtcagc cagccaggga aga 23
 <210> 127
 <211> 23
 45 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 50 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo -786 T>C en el gen NOS3
 <400> 127
 tcttcctgg ccggctgacc ctg 23
 55 <210> 128
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo -786 T>C en el gen NOS3
 <400> 128
 65 caggtcagc cggccaggga aga 23

<210> 129
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Glu298Asp en el gen NOS3
 <400> 129
 10 gccccagatg agccccaga act 23
 <210> 130
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Glu298Asp en el gen NOS3
 20 <400> 130
 agttctgggg gctcatctgg ggc 23
 <210> 131
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Glu298Asp en el gen NOS3
 30 <400> 131
 gccccagatg atccccaga act 23
 <210> 132
 <211> 23
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Glu298Asp en el gen NOS3
 <400> 132
 agttctgggg gatcatctgg ggc 23
 45 <210> 133
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Leu7Pro en el gen NPY
 <400> 133
 55 cggacagccc cagtcgcttg tta 23
 <210> 134
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Leu7Pro en el gen NPY
 <400> 134
 65 taacaagcga ctggggctgt ccg 23

<210> 135
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Leu7Pro en el gen NPY
 <400> 135
 10 cggacagccc cggtcgcttg tta 23
 <210> 136
 <211> 23
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Leu7Pro en el gen NPY
 20 <400> 136
 taacaagcga cggggcgtgt ccg 23
 <210> 137
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Cys326Ser en el gen OGG1
 30 <400> 137
 cctgcgcaa tccgcatg ctc 23
 <210> 138
 <211> 21
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Cys326Ser en el gen OGG1
 <400> 138
 ctgcgcaat cccgcatgc t 21
 45 <210> 139
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Cys326Ser en el gen OGG1
 <400> 139
 55 cctgcgcaa tgccgcatg ctc 23
 <210> 140
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial
 60 <220>
 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Cys326Ser en el gen OGG1
 <400> 140
 65 ctgcgcaat gccgcatgc t 21

<210> 141
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial
 5
 <220>
 <223> sonda 1 para detectar el polimorfismo Ala16Val en el gen SOD2
 <400> 141
 10 gataccccaa agccggagcc agc 23
 <210> 142
 <211> 21
 <212> DNA
 15 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 2 para detectar el polimorfismo Ala16Val en el gen SOD2
 20 <400> 142
 ataccccaaa gccggagcca g 21
 <210> 143
 <211> 23
 25 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> sonda 3 para detectar el polimorfismo Ala16Val en el gen SOD2
 30 <400> 143
 gataccccaa aaccggagcc agc 23
 <210> 144
 <211> 21
 35 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 40 <223> sonda 4 para detectar el polimorfismo Ala16Val en el gen SOD2
 <400> 144
 ataccccaaa accggagcca g 21
 45 <210> 145
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Intron 16 ins/del en el gen ACE
 <400> 145
 55 gggactctgt aagccactgc 20
 <210> 146
 <211> 20
 60 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 65 existir el polimorfismo Intron 16 ins/del en el gen ACE

<400> 146
 ccatgcccat aacaggtctt 20
 <210> 147
 5 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 10 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo R577X en el gen ACTN3
 <400> 147
 15 agctgacact tctgcctgt 20
 <210> 148
 <211> 20
 <212> DNA
 20 <213> artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo R577X en el gen ACTN3
 25 <400> 148
 ggggtgatgta gggattggtg 20
 <210> 149
 <211> 20
 30 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 35 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo G389R en el gen ADRB1
 <400> 149
 gccttcaacc ccatcatcta 20
 40 <210> 150
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 45 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo G389R en el gen ADRB1
 <400> 150
 50 caggctcgag tcgctgtc 18
 <210> 151
 <211> 18
 <212> DNA
 55 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Q27E en el gen ADRB2
 60 <400> 151
 gctcacctgc cagactgc 18
 <210> 152
 65 <211> 20

<212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Q27E en el gen ADRB2

 <400> 152
 gccaggacga tgagagacat 20
 10
 <210> 153
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 15
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo G16R en el gen ADRB2
 20 <400> 153
 gtcacactgc cagactgc 18

 <210> 154
 <211> 20
 25 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 30 existir el polimorfismo G16R en el gen ADRB2

 <400> 154
 gccaggacga tgagagacat 20
 35 <210> 155
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo W64Ren el gen ADRB3
 45 <400> 155
 caataccgcc aacaccagt 19

 <210> 156
 <211> 19
 <212> DNA
 50 <213> Artificial

 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 55 existir el polimorfismo W64Ren el gen ADRB3

 <400> 156
 cgaagtcacg aacacgttg 19
 60 <210> 157
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 65 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede

existir el polimorfismo M235Ten el gen AGT

5	<400> 157 gaactggatg ttgctgctga	20
10	<210> 158 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo M235Ten el gen AGT	
15	<400> 158 ttgccttacc ttggaagtgg	20
20	<210> 159 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo L7P en el gen NPY	
25	<400> 159 ctctgcctgggtgatgaggtt	20
30	<210> 160 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo L7P en el gen NPY	
35	<400> 160 gcagaggagggaggtgct	20
40	<210> 161 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo -75 G>A en el gen APOA1	
45	<400> 161 cacctccttc tcgcagtctc	20
50	<210> 162 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo -75 G>A en el gen APOA1	
55	<400> 162 gggacagagc tgatccttga	20
60		
65		

5 <210> 163
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo R3480W en el gen APOB
 10 <400> 163
 agcctcacct ctacttttc cattgagtc 29
 <210> 164
 <211> 24
 15 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 20 existir el polimorfismo R3480W en el gen APOB
 <400> 164
 cgttggtgaa aaagaggccc tcta 24
 25 <210> 165
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Arg3500Gln en el gen APOB
 35 <400> 165
 agcctcacct ctacttttc cattgagtc 29
 <210> 166
 <211> 24
 <212> DNA
 40 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 45 existir el polimorfismo Arg3500Gln en el gen APOB
 <400> 166
 cgttggtgaa aaagaggccc tcta 24
 50 <210> 167
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial
 55 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Arg3531Cys en el gen APOB
 60 <400> 167
 agcctcacct ctacttttc cattgagtc 29
 <210> 168
 <211> 24
 <212> DNA
 65 <213> Artificial

<220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Arg3531Cys en el gen APOB
 5 <400> 168
 cgttggtgaa aaagaggccc tcta 24
 <210> 169
 <211> 18
 10 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 15 existir el polimorfismo Cys112Arg en el gen APOE
 <400> 169
 ctgtccaagg agctgcag 18
 20 <210> 170
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Cys112Arg en el gen APOE
 <400> 170
 30 ctgttcacc aggggccc 18
 <210> 171
 <211> 18
 <212> DNA
 35 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 40 existir el polimorfismo Arg158Cys en el gen APOE
 <400> 171
 ctgtccaagg agctgcag 18
 <210> 172
 45 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 50 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Arg158Cys en el gen APOE
 <400> 172
 ctgttcacc aggggccc 18
 55 <210> 173
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> artificial
 60 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo R45Q en el gen DSG2
 65 <400> 173

tgacacataa taaatttgg caat 24

<210> 174
<211> 20
5 <212> DNA
<213> artificial

<220>
10 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
existir el polimorfismo R45Q en el gen DSG2

<400> 174
ggcaattgga ttcttctgg 20

15 <210> 175
<211> 24
<212> DNA
<213> artificial

20 <220>
<223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
existir el polimorfismo R48H en el gen DSG2

25 <400> 175
tgacacataa taaatttgg caat 24

<210> 176
<211> 20
<212> DNA
30 <213> artificial

<220>
<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
existir el polimorfismo R48H en el gen DSG2

35 <400> 176
ggcaattgga ttcttctgg 20

40 <210> 177
<211> 20
<212> DNA
<213> artificial

45 <220>
<223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
existir el polimorfismo W305X en el gen DSG2

<400> 177
gcttgaaggg atggtgaag 20

50 <210> 178
<211> 21
<212> DNA
<213> artificial

55 <220>
<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
existir el polimorfismo W305X en el gen DSG2

60 <400> 178
aagggtcaca attccttcgt t 21

<210> 179
<211> 20
65 <212> DNA

<213> artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 5 existir el polimorfismo C506Y en el gen DSG2
 <400> 179
 caacgacaac tgtccacac 20
 10 <210> 180
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial
 15 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo C506Y en el gen DSG2
 <400> 180
 20 cttggcgtgc tattttccat 20
 <210> 181
 <211> 20
 <212> DNA
 25 <213> artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 30 existir el polimorfismo G811C en el gen DSG2
 <400> 181
 aaagcggcct ctactactga 20
 <210> 182
 35 <211> 20
 <212> DNA
 <213> artificial
 <220>
 40 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo G811C en el gen DSG2
 <400> 182
 45 tttgaccca ggcaaacttc 20
 <210> 183
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial
 50 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo 825 C>T (Ser275Ser) en el gen GNB3
 <400> 183
 55 ctgccgcttg ttgacct 18
 <210> 184
 <211> 20
 60 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 65 existir el polimorfismo 825 C>T (Ser275Ser) en el gen GNB3

	<400> 184 cacacgtca gactcatgg	20
5	<210> 185 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial	
10	<220> <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo GSTM1	
15	<400> 185 atggttgca ggaaacaagg	20
20	<210> 186 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial	
25	<220> <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo GSTM1	
30	<400> 186 aaagcgggag atgaagtcct	20
35	<210> 187 <211> 21 <212> DNA <213> Artificial	
40	<220> <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Ile105Val en el gen GSTP1	
45	<400> 187 tgcttcacgt gttatggagg t	21
50	<210> 188 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial	
55	<220> <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Ile105Val en el gen GSTP1	
60	<400> 188 gggctcaaatacgggtgga	20
65	<210> 189 <211> 20 <212> DNA <213> Artificial	
	<220> <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Ala114Val en el gen GSTP1	
	<400> 189 gcaagcagag gagaatctgg	20
	<210> 190 <211> 20	

<212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 5 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo Ala114Val en el gen GSTP1

 <400> 190
 10 ctcacctggt ctcccacaat 20

 <210> 191
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo GSTT1

 20 <400> 191
 ggcagcataa gcaggacttc 20

 <210> 192
 <211> 20
 25 <212> DNA
 <213> Artificial

 <220>
 30 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo GSTT1

 <400> 192
 ctgcagttgc tcgaggacaa 20

 35 <210> 193
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial

 40 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo -174 C>G en el gen IL6

 <400> 193
 45 gcctcaatga cgacctaagc 20

 <210> 194
 <211> 20
 <212> DNA
 50 <213> Artificial

 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo -174 C>G en el gen IL6
 55 <400> 194
 tcatgggaaa atcccacatt 20

 60 <210> 195
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial

 65 <220>

<223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo R64Q en el gen NAT2

5 <400> 195
ccatggagtt gggcttagag 20

<210> 196
<211> 20
<212> DNA
10 <213> Artificial

<220>
<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo R64Q en el gen NAT2

15 <400> 196
ccatgccagt gctgtatttg 20

<210> 197
20 <211> 20
<212> DNA
<213> artificial

<220>
25 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo 282 C>T en el gen NAT2

<400> 197
30 ccatggagtt gggcttagag 20

<210> 198
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

35 <220>
<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo 282 C>T en el gen NAT2

40 <400> 198
ccatgccagt gctgtatttg 20

<210> 199
<211> 20
45 <212> DNA
<213> Artificial

<220>
50 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo I114T en el gen NAT2

<400> 199
ccatggagtt gggcttagag 20

55 <210> 200
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial

60 <220>
<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo I114T en el gen NAT2

<400> 200
65 ccatgccagt gctgtatttg 20

5
 <210> 201
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo 481C>T en el gen NAT2
 10 <400> 201
 caggtgcctt gcatttct 19
 <210> 202
 <211> 20
 15 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 20 existir el polimorfismo 481C>T en el gen NAT2
 <400> 202
 gatgaagccc accaaacagt 20
 25 <210> 203
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 existir el polimorfismo R197Q en el gen NAT2
 <400> 203
 35 caggtgcctt gcatttct 19
 <210> 204
 <211> 20
 <212> DNA
 40 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede
 45 existir el polimorfismo R197Q en el gen NAT2
 <400> 204
 gatgaagccc accaaacagt 20
 <210> 205
 <211> 24
 <212> DNA
 50 <213> Artificial
 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede
 55 existir el polimorfismo K268R en el gen NAT2
 <400> 205
 aaagacaata cagatctggt cgag 24
 60 <210> 206
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
 65

- <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo K268R en el gen NAT2
- 5 <400> 206
 tcttcaaaat aacgtgaggg taga 24
- <210> 207
 <211> 24
 10 <212> DNA
 <213> Artificial
- <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo G286E en el gen NAT2
- 15 <400> 207
 aaagacaata cagatctggt cgag 24
- 20 <210> 208
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial
- 25 <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo G286E en el gen NAT2
- 30 <400> 208
 tcttcaaaat aacgtgaggg taga 24
- <210> 209
 <211> 20
 <212> DNA
 35 <213> Artificial
- <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo -786 T>C en el gen NOS3
- 40 <400> 209
 gtgtacccca cctgcattct 20
- 45 <210> 210
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> Artificial
- <220>
 <223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo -786 T>C en el gen NOS3
- 50 <400> 210
 cccaccctgt cattcagtg 19
- 55 <210> 211
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial
- 60 <220>
 <223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Glu298Asp en el gen NOS3
- 65 <400> 211

	gaaggcagga gacagtggat	20
	<210> 212	
	<211> 20	
5	<212> DNA	
	<213> Artificial	
	<220>	
10	<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Glu298Asp en el gen NOS3	
	<400> 212	
	cagtcaatcc ctttggtgct	20
15	<210> 213	
	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Artificial	
20	<220>	
	<223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Cys326Ser en el gen OGG1	
	<400> 213	
25	tagtctcacc agccctgacc	20
	<210> 214	
	<211> 20	
	<212> DNA	
30	<213> Artificial	
	<220>	
	<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Cys326Ser en el gen OGG1	
35	<400> 214	
	tggggaattt cttgtccag	20
	<210> 215	
40	<211> 20	
	<212> DNA	
	<213> Artificial	
	<220>	
45	<223> oligonucleótido 1 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Ala16Val en el gen SOD2	
	<400> 215	
50	ggctgtgctt tctcgtcttc	20
	<210> 216	
	<211> 19	
	<212> DNA	
	<213> Artificial	
55	<220>	
	<223> oligonucleótido 2 para amplificar el fragmento en el que puede existir el polimorfismo Ala16Val en el gen SOD2	
60	<400> 216	
	ccgtagtcgt agggcaggt	19



- ②① N.º solicitud: 201190077
②② Fecha de presentación de la solicitud: 16.06.2010
③② Fecha de prioridad: **17-06-2009**

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **C12Q1/68** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 2004024947 A1 (GENETIC TECHNOLOGIES LIMITED [AU/AU]) 25.03.2004, página 12, párrafo [0041] – página 13, párrafo [0043]; página 25, párrafo [0084] – página 26, párrafo [0086]; Tabla-4; reivindicaciones 1-23.	1-11
A	WO 2008102038 A1 (PROGENIKA BIOPHARMA, S.A. [ES/ES]) 28.08.2008, página 34, línea 10 – página 61, línea 20; reivindicaciones 1-21.	1-11
A	WOLFARTH B. et al. Association between a β 2-adrenergic receptor polymorphism and elite endurance performance. Metabolism, Clinical and Experimental. 2007. Vol. 56, páginas: 1649-1651, página 1649, resumen.	1-11

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
24.01.2013

Examinador
M. D. García Grávalos

Página
1/5

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12Q

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, USPTO PATENT DATABASE, GOOGLE ACADEMICO, EBI.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.01.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-11	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-11	SI
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2004024947 A1	25.03.2004
D02	WO 2008102038 A1	28.08.2008
D03	WOLFARTH B. et al. Metabolism, Clinical and Experimental. 2007. Vol. 56, páginas: 1649-1651.	2007

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente invención divulga un método de predicción del potencial de un sujeto hacia deportes de potencia o de resistencia, basado en el genotipado conjunto de los polimorfismos NOS3-786T/C, IL6-174G/C y NAT2 803A/G y adicionalmente de otros marcadores polimórficos de genes asociados con deportes de resistencia y/o potencia (reivindicaciones 1-8). Asimismo, también se refiere a un ADN-chip que comprende sondas específicas para los polimorfismos a detectar y a un kit con el cual se puede llevar a cabo el método de la invención (reivindicaciones 9-11).

El documento D01 divulga un método de predicción del comportamiento atlético de un sujeto basado en la determinación de al menos un polimorfismo del gen de la alfa-actinina-3 (ACTN3), preferentemente el polimorfismo 1747C/T, pudiendo opcionalmente incluir otros polimorfismos de genes asociados con deportes de resistencia y/o potencia (ver página 12, párrafo [0041] - página 13, párrafo [0043]; página 25, párrafo [0084] - página 26, párrafo [0086]; TABLA-4; reivindicaciones 1-23).

El documento D02 divulga un método de predicción del riesgo genético de un sujeto a desarrollar una patología asociada al envejecimiento, basado en la determinación de unos polimorfismos de único nucleótido. Se refiere también a un ADN-chip que comprende sondas específicas para los polimorfismos a detectar y a un kit para llevar a cabo el método de la invención (ver página 34, línea 10 - página 61, línea 20; reivindicaciones 1 - 21).

El documento D03 divulga un estudio sobre la asociación del polimorfismo de único nucleótido del gen beta 3-adrenoreceptor, ADRB2 R16G, y la resistencia que presentan atletas de élite (ver página 1649, resumen).

1. NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 6.1 y Art. 8.1 LP 11/1986)

La presente invención divulga un método de predicción del potencial de un sujeto hacia deportes de potencia o de resistencia, basado en el genotipado conjunto de los polimorfismos NOS3-786T/C, IL6-174G/C y NAT2 803A/G y adicionalmente de otros marcadores polimórficos de genes asociados con deportes de resistencia y/o potencia. Se refiere también a un ADN-chip y a un kit que contienen sondas y cebadores específicos para dichos polimorfismos.

1.1. REIVINDICACIONES 1-11

El documento D01 se considera el más cercano al estado de la técnica ya que anticipa un método de predicción del comportamiento atlético de un sujeto basado en la determinación de al menos un polimorfismo del gen ACTN3 y opcionalmente de otros genes asociados con deportes de resistencia y/o potencia. La diferencia entre este documento y la presente invención radica en la especificidad de los polimorfismos NOS3-786T/C, IL6-174G/C y NAT2803A/G, que no se ha encontrado en D01.

Por otra parte, el documento D02 divulga un método de predicción del riesgo genético de un sujeto a desarrollar una patología asociada al envejecimiento, basado en la determinación de unos polimorfismos de único nucleótido, anticipando varios de los polimorfismos reivindicados en la presente solicitud, así como un ADN-chip y un kit que contienen sondas y cebadores también reivindicados en la presente solicitud.

La diferencia entre los documentos D01 y D02 y la presente invención radica por una parte en el uso conjunto de los polimorfismos NOS3-786T/C, IL6-174G/C y NAT2803A/G en un método para determinar el potencial de un sujeto hacia deportes de potencia o de resistencia. Por otra parte, la invención se refiere a un ADN-chip que contiene al menos un conjunto de sondas para detección de los dichos polimorfismos; y, un kit de amplificación que contiene al menos las parejas de oligonucleótidos cebadores necesarias para la identificación de los polimorfismos anteriormente indicados.

Aunque los polimorfismos reivindicados en la presente solicitud son conocidos en el estado de la técnica y también el uso de polimorfismos de único nucleótido en un método para determinar el comportamiento atlético de un sujeto; sin embargo, se considera que el uso conjunto de tres polimorfismos para este fin aporta una solución alternativa a lo anticipado en el estado de la técnica que no resultaría evidente para un experto en la materia.

En consecuencia, según lo divulgado en D01 y D02, las reivindicaciones 1-11 cumplen con el requisito de novedad y actividad inventiva (Art. 6.1 y Art. 8.1 LP11/1986).

El documento D03 se refiere al estado de la técnica y no se considera relevante en relación con el objeto de la invención.