

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 988**

21 Número de solicitud: 201531933

51 Int. Cl.:

C12N 15/113 (2010.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

30.12.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

30.06.2017

71 Solicitantes:

**FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
SANITARIA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ (100.0%)
Avenida de los Reyes Católicos 2
28040 MADRID ES**

72 Inventor/es:

**ORTIZ ARDÚAN, Alberto;
SANZ BARTOLOMÉ, Ana Belén;
SÁNCHEZ NIÑO, María Dolores y
POVEDA NUÑEZ, Jonay**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **ELABORACIÓN DE UN MEDICAMENTO PARA PREVENIR EL ENVEJECIMIENTO
PREMATURO EN HUMANOS, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA Y MÉTODO DE SELECCIÓN
DE COMPUESTOS BASADO EN EL USO DE siRNA de NFKbiz**

57 Resumen:

Elaboración de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos, composición farmacéutica y método de selección de compuestos basado en el uso de siRNA de NFKbiz. Uso de una composición que comprende unas moléculas de ARN para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano y composición farmacéutica. Método de selección de compuestos útiles en el tratamiento del envejecimiento prematuro, que comprende incubar células tubulares renales, determinar si la expresión de NFKbiz en las células tubulares renales es menor a la expresión de NFKbiz en una muestra control e identificar un compuesto como compuesto útil en el tratamiento del envejecimiento prematuro.

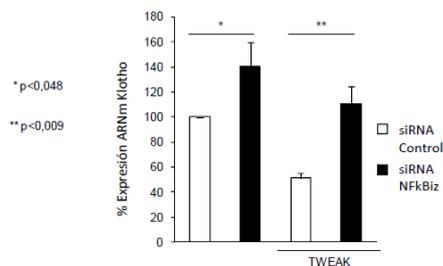


Fig. 1

**ELABORACIÓN DE UN MEDICAMENTO PARA PREVENIR EL ENVEJECIMIENTO
PREMATURO EN HUMANOS, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA Y MÉTODO DE
SELECCIÓN DE COMPUESTOS BASADO EN EL USO DE siRNA de NFKbiz**

5

DESCRIPCIÓN

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a un compuesto útil para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos. En concreto, dicho compuesto es siRNA de NFKbiz (I κ B- ζ , NF-kappabiz), cuyo mecanismo de acción es disminuir la expresión de NFKbiz. siRNA de NFKbiz previene la disminución en la expresión de Klotho, una hormona antienvjecimiento.

15

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Klotho es una hormona antienvjecimiento que se expresa en los túbulos celulares del riñón. El déficit genético de Klotho en ratones causa envejecimiento acelerado y muerte en la adolescencia por enfermedades asociadas a la vejez en la adolescencia. El riñón es el principal órgano que expresa Klotho. El defecto genético específico de Klotho en riñones de ratones y el defecto adquirido de Klotho en la enfermedad renal humana se asocian a envejecimiento acelerado y mortalidad prematura. La inflamación es responsable del descenso de la expresión renal de Klotho. En concreto, la inflamación sistémica causada por TNF o TWEAK, citoquinas de la superfamilia del TNF, baja la expresión renal de Klotho. En la actualidad no hay ninguna terapia licenciada que aumente la expresión de Klotho o evite el descenso de la expresión de Klotho.

NFKbiz es un regulador de NF-kappaB perteneciente a la familia de I-kappaB. La expresión de NFKbiz aumenta en respuesta a moléculas que se unen a los receptores TLR y a IL-1beta. NFKbiz se une a NF-kappaB en el núcleo formando complejos de unión con los sitios NF-kappaB de los promotores de los genes diana de NF-kappaB regulando su expresión.

En el documento Moreno, J.A., et al., The inflammatory cytokines TWEAK and TNF α reduce renal klotho expression through NF κ B. J Am Soc Nephrol, 2011, Vol. 22, N $^{\circ}$ 7, páginas 1315-25 se identifican a las citoquinas inflamatorias TNFalfa y TWEAK como responsables de la disminución de Klotho a través de un mecanismo dependiente de NF-kappaB. Como Klotho es una proteína expresada principalmente en el riñón con propiedades antienvjecimiento,

los autores muestran la relación entre la inflamación y las enfermedades caracterizadas por un envejecimiento de otros órganos, como la enfermedad renal crónica.

5 En el documento Concepción Izquierdo M. et al. Acute kidney injury transcriptomics unveils a relationship between inflammation and ageing. Nefrologia. 2012; 32:715-23 se considera que el factor de transcripción NFKB podría ser clave en la regulación de los genes proinflamatorios y en la regulación a la baja de Klotho en respuesta a TWEAK.

10 Varios documentos del estado de la técnica describen NFKBiz como un regulador de NF-kappaB a nivel transcripcional y que tiene propiedades proinflamatorias en células del sistema inmune (Yamamoto, M. et al. (2004) Regulation of Toll/IL-1-receptor-mediated gene expression by the inducible nuclear protein IkappaBzeta Nature 430:218-222) pero antiinflamatorias y proapoptóticas en células epiteliales (Shiina, T. et al. (2004) Targeted disruption of MAIL, a nuclear IkappaB protein, leads to severe atopic dermatitis-like disease
15 J. Biol. Chem. 279:55493-55498).

Pero en el estado de la técnica no se describe que siRNA de NFKbiz tenga un efecto de prevención y aumento de la expresión de Klotho ni se describe el uso de siRNA de NFKbiz para prevenir el envejecimiento prematuro debido al déficit de expresión de Klotho.

20

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

En un primer aspecto, la presente invención proporciona el uso de una composición que comprende unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un
25 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3 para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano.

Este primer aspecto se puede formular de forma alternativa como una composición que comprende unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un
30 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3 para su uso para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano.

Este primer aspecto también se puede formular de forma alternativa como un método para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano que comprende administrar unas
35 moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3 a un humano.

En el primer aspecto de la invención, las moléculas de ARN son moléculas “siRNA”, término conocido en el estado de la técnica, que proviene del término “*small interfering RNA*” y hace referencia a un ARN pequeño de interferencia.

5

En otro aspecto, la invención es el uso de una composición que contiene unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3 para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano.

10

En otro aspecto, la invención es el uso del primer aspecto, donde dicho envejecimiento prematuro está causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.

15

En la presente solicitud, el porcentaje de “identidad” en una secuencia se calcula comparando las secuencias y obteniendo la proporción de nucleótidos idénticos entre estas secuencias que se comparan. Los métodos de comparación de secuencias son conocidos en el estado de la técnica, e incluyen, aunque sin limitarse a ellos, los algoritmos de comparación de secuencias FASTA, NCBI BLAST, WU-BLAST, GGSEARCH y GLSEARCH.

20

Las moléculas de ARN con una identidad de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3 tendrán las mismas propiedades que las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.

25

La identidad de secuencia puede ser de al menos un 80, 82, 84, 86, 88, 90, 82, 94, 95, 96 o 98 % de identidad.

En otro aspecto, la invención es el uso del primer aspecto, donde dicha identidad de secuencia es de al menos un 90%.

30

En otro aspecto, la invención es el uso del primer aspecto, donde dicha identidad de secuencia es de al menos un 95%.

En otro aspecto, la invención es el uso del primer aspecto, donde la identidad es del 100% y dichas moléculas de ARN están identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.

35

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.

- 5 En otro aspecto, la invención es una composición farmacéutica que contiene unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.

10 La identidad de secuencia puede ser de al menos un 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 95, 96 o 98 % de identidad.

En otro aspecto, la invención es la composición farmacéutica del segundo aspecto, donde dicha identidad de secuencia es de al menos un 90%.

- 15 En otro aspecto, la invención es la composición farmacéutica del segundo aspecto, donde dicha identidad de secuencia es de al menos un 95%.

20 En otro aspecto, la invención es la composición farmacéutica del segundo aspecto, donde la identidad de secuencia es del 100% y dichas moléculas de ARN son las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.

En otro aspecto, la invención es la composición farmacéutica del segundo aspecto, que comprende además excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 25 El término “excipientes” hace referencia a compuestos que estabilizan y favorecen la absorción de los principios activos, colorantes, endulzantes, saborizantes, protectores frente al aire y/o humedad, aglutinantes, etc.

30 La composición farmacéutica puede ser formulada con excipientes farmacéuticamente aceptables, así como con cualquier otro tipo de portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables, de acuerdo con técnicas convencionales en la práctica farmacéutica.

La composición farmacéutica puede ser administrada por si sola o en combinación con otros principios activos.

35

La composición farmacéutica puede ser administrada en dosis simples o múltiples.

La composición farmacéutica del primer aspecto de la invención puede ser administrada por cualquier vía de administración (por ejemplo, oral, sublingual, perioral, parenteral, intraperitoneal, intramuscular, intranasal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, subcutánea, tópica, etc.) para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida.

La composición farmacéutica puede ser formulada para proporcionar la liberación controlada del ingrediente activo como por ejemplo liberación sostenida o prolongada de acuerdo con métodos que son bien conocidos en la técnica.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un método de selección de compuestos útiles a partir de una librería de compuestos en el tratamiento del envejecimiento prematuro, que comprende:

- (a) incubar células tubulares renales en presencia de uno de los compuestos seleccionado de la librería de compuestos,
- (b) determinar si la expresión de NFKbiz en las células tubulares renales es menor a la expresión de NFKbiz en una muestra control e
- (c) identificar el compuesto seleccionado en la etapa (a) como compuesto útil en el tratamiento del envejecimiento prematuro cuando la expresión de NFKbiz en las células tubulares renales sea menor a la expresión de NFKbiz en una muestra control.

La presente invención previene el envejecimiento en los seres humanos mediante el mantenimiento de la expresión normal de Klotho.

La presente invención previene el envejecimiento en los pacientes que tienen inflamación sistémica de cualquier causa.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Prevención de la disminución en la expresión Klotho inducida por TWEAK a 3 horas en las células tubulares renales. Media +/- ESM de tres experimentos independientes. RT-PCR cuantitativa.

Figura 2. Prevención de la disminución en la expresión Klotho inducida por TWEAK a 24 horas en las células tubulares renales. Resultados de expresión de proteína Klotho por Western blot.

5 MODOS DE REALIZACIÓN PREFERENTE

Ejemplo 1. Materiales y métodos

Cultivo celular y reactivos

10

Para los estudios in vitro se cultivaron células renales de túbulo proximal de ratón (MCT). Estas células se cultivaron en medio RPMI 1640 (Life Technologies, Grand Island, NY) con 10% de suero bovino fetal inactivado por calor, 2 mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomycin en una atmósfera con 5% de dióxido de carbono a 37°C. Para los experimentos, el suero bovino fetal fue retirado 24 horas antes de los estudios y durante todo el experimento. Las células fueron silenciadas con una mezcla de 3 secuencias, SEQ ID NO: 1-3.

20 Posteriormente las células fueron tratadas con TWEAK 100 ng/ml (Millipore, MA) durante 3 ó 24 horas.

Estudios de proteínas por Western blot

25 La membrana fue incubada durante toda la noche a 4°C con el anticuerpo anti-Klotho a una dilución 1:1000. Tras esto, se lavó la membrana y se incubó con un anticuerpo secundario unido a peroxidasa a una dilución 1:2000 (Amersham, Aylesbury, Reino Unido). El siguiente paso fue incubar la membrana con anti-tubulina a una dilución 1:10000 (Sigma, St. Louis, MO) y su correspondiente anticuerpo secundario. Se ha utilizado la tubulina como control de carga de la técnica. Tras esto, las membranas se revelaron con el método de quimioluminiscencia potenciada (ECL) siguiendo las instrucciones del fabricante (Amersham).

35

Extracción de ARN y reacción inversa de la polimerasa (PCR)

El ARN total se extrajo a partir de tejido y de células por el método del reactivo TRI (Sigma) y 4 µg de ARN se transcribieron a ADN complementario mediante el kit comercial High Capacity cDNA Archive Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Se usó una sonda para Klotho previamente desarrollada (Applied Biosystems). La PCR cuantitativa se realizó en un termociclador ABI Prims 7500 (Applied Biosystems) de acuerdo con el protocolo del fabricante y utilizando el método de Ct DeltaDELTA. Los niveles de expresión se muestran como relaciones a GAPDH.

Ejemplo 2. Prevención de la disminución en la expresión de Klotho inducida por TWEAK en las células tubulares renales.

Se cultivaron células tubulares renales según lo descrito en el Ejemplo 1. TWEAK baja la expresión de mRNA de Klotho en células tubulares cultivadas y siRNA de NFKbiz evita este efecto (Figura 1).

A las 24 horas se observa una disminución de proteína Klotho en células tubulares cultivadas en presencia de TWEAK y siRNA de NFKbiz evita este efecto (Figura 2).

REIVINDICACIONES

1. Uso de una composición que comprende unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3 para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano.
2. Uso según la reivindicación 1, caracterizado por que dicho envejecimiento prematuro está causado por un déficit de expresión de la hormona anti envejecimiento Klotho.
3. Uso de una composición farmacéutica según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que dicha identidad de secuencia es de al menos un 90%.
4. Uso de una composición farmacéutica según la reivindicación 3, caracterizado por que dicha identidad de secuencia es de al menos un 95%.
5. Uso de una composición según la reivindicación 4, caracterizado porque dichas moléculas de ARN están identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.
6. Una composición farmacéutica que comprende unas moléculas de ARN que tienen una identidad de secuencia de al menos un 80% respecto a las secuencias identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.
7. Composición farmacéutica según la reivindicación 6, caracterizada por que dicha identidad de secuencia es de al menos un 90%.
8. Composición farmacéutica según la reivindicación 7, caracterizada por que dicha identidad de secuencia es de al menos un 95%.
9. Composición farmacéutica según la reivindicación 8, caracterizada por que dichas moléculas de ARN están identificadas por las secuencias SEQ ID NO: 1, 2 y 3.
10. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, caracterizada por que comprende además excipientes farmacéuticamente aceptables.
11. Método de selección de compuestos útiles a partir de una librería de compuestos en el tratamiento del envejecimiento prematuro, que comprende:
 - (a) incubar células tubulares renales en presencia de uno de los compuestos seleccionado de la librería de compuestos,
 - (b) determinar si la expresión de NFKbiz en las células tubulares renales es menor a la expresión de NFKbiz en una muestra control e
 - (c) identificar el compuesto seleccionado en la etapa (a) como compuesto útil en el tratamiento del envejecimiento prematuro cuando la expresión de NFKbiz en las células tubulares renales sea menor a la expresión de NFKbiz en una muestra control.

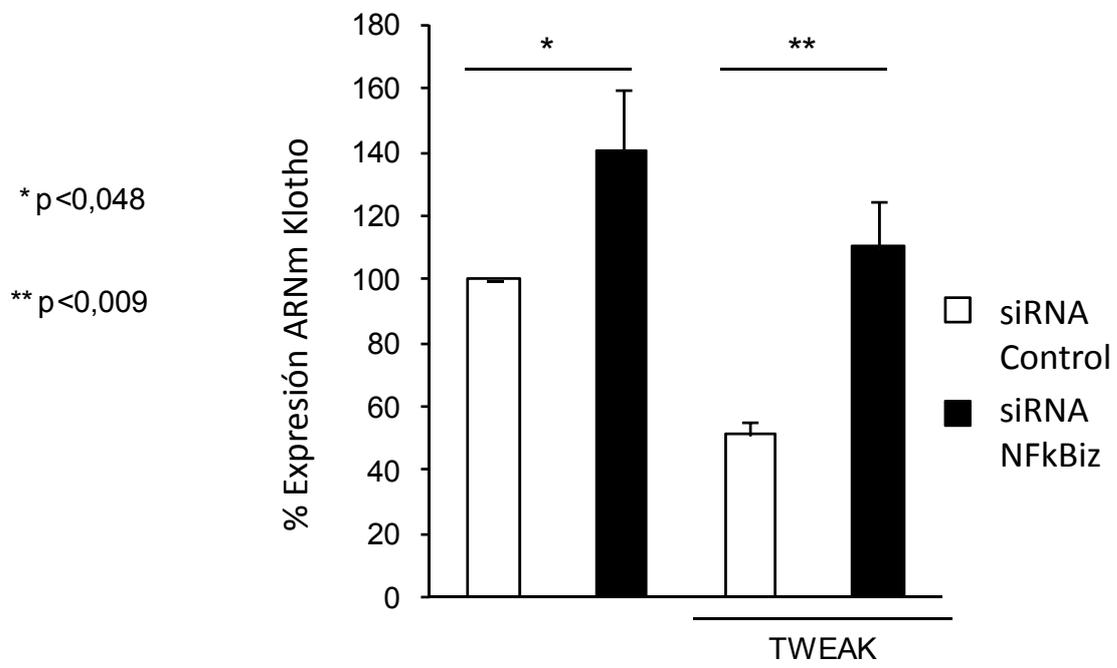


Fig. 1

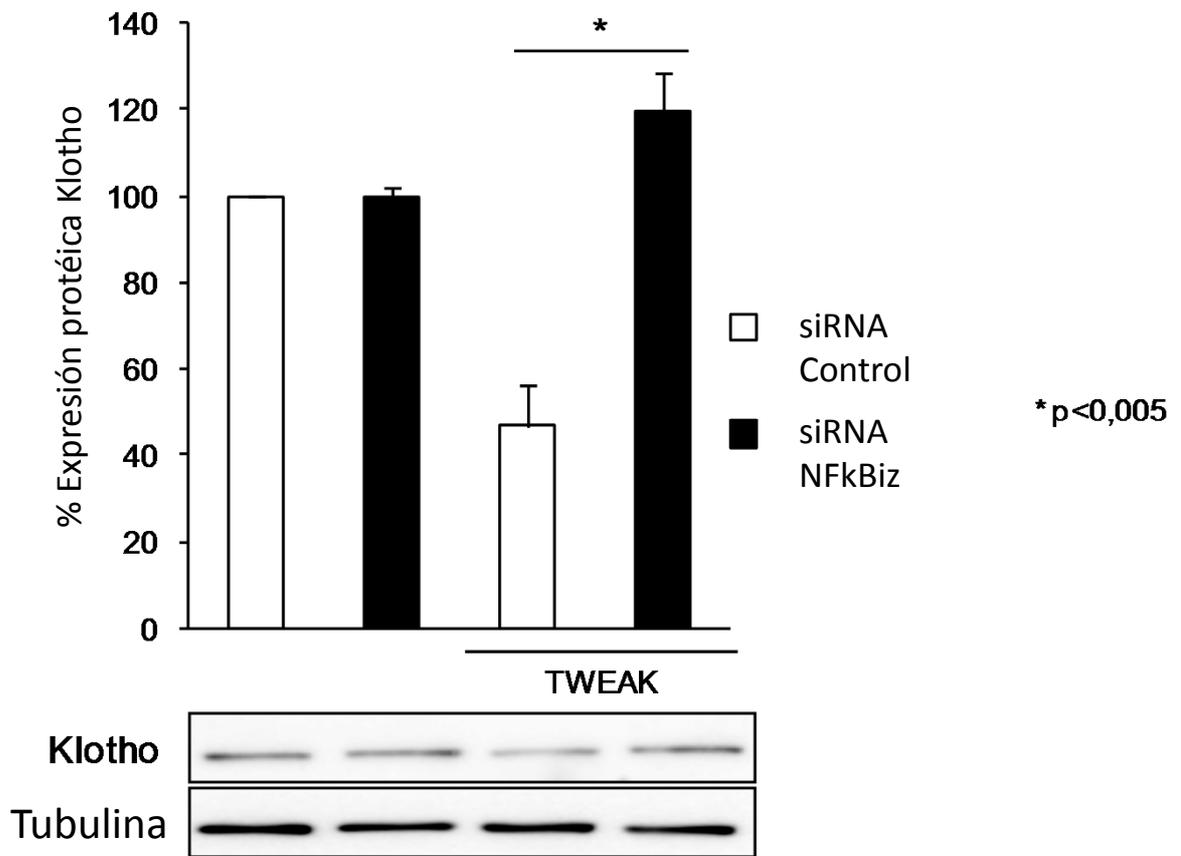


Fig. 2

ES 2 620 988 A1

LISTA DE SECUENCIAS

<110> FUNDACIÓN INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SANITARIA DE LA FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ

<120> ELABORACIÓN DE UN MEDICAMENTO PARA PREVENIR EL ENVEJECIMIENTO PREMATURO EN HUMANOS, COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA Y MÉTODO DE SELECCIÓN DE COMPUESTOS BASADO EN EL USO DE siRNA de NFKb ζ

<130> 2015/17497

<160> 3

<170> BISSAP 1.2

<210> 1

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<222> 1..19

<223> /mol_type="unassigned RNA"

/note="siRNA 1"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 1

guaccaguau ucgccacaa

19

<210> 2

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<222> 1..19

<223> /mol_type="unassigned RNA"

/note="siRNA 2"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 2

guugccuguc uuucgugaa

19

<210> 3

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

<222> 1..19

<223> /mol_type="unassigned RNA"

/note="siRNA 3"

/organism="Artificial Sequence"

<400> 3

gaaccacgga cauugaaa

19



- ②1 N.º solicitud: 201531933
②2 Fecha de presentación de la solicitud: 30.12.2015
③2 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤1 Int. Cl.: **C12N15/113** (2010.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤6 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2006275294 A1 (OMOIGUI OSEMWOTA S) 07/12/2006, Rev. 1, 51, 60	1-11
A	US 2007099252 A1 (BATHEJA AMEESHA D et al.) 03/05/2007, Rev. 14-16	1-11
A	Izquierdo M Concepción et al.. ACUTE KIDNEY INJURY TRANSCRIPTOMICS UNVEILS A RELATIONSHIP BETWEEN INFLAMMATION AND AGEING. 30/11/2011, Vol. 32, Páginas 715 - 723, ISSN 1989-2284 (Electronic), <DOI: doi:10.3265/Nefrologia.pre2012.Aug.11667 pubmed: 23093094>. Todo el documento	1-11
A	Moreno Juan A et al. THE INFLAMMATORY CYTOKINES TWEAK AND TNF? REDUCE RENAL KLOTTHO EXPRESSION THROUGH NFkB. 30/06/2011, Vol. 22, Páginas 1315 - 1325, ISSN 1533-3450 (Electronic), <DOI: doi:10.1681/ASN.2010101073 pubmed: 21719790>. Todo el documento	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
14.03.2017

Examinador
A. I. Santos Díaz

Página
1/4

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

C12N

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

INVENES, EPODOC, MEDLINE, BIOSIS, EBI, STN,

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 14.03.2017

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	US 2006275294 A1 (OMOIGUI OSEMWOTA S)	07.12.2006
D02	US 2007099252 A1 (BATHEJA AMEESHA D et al.)	03.05.2007
D03	Izquierdo M Concepcion et al.. ACUTE KIDNEY INJURY TRANSCRIPTOMICS UNVEILS A RELATIONSHIP BETWEEN INFLAMMATION AND AGEING. Vol. 32, Páginas 715 - 723, ISSN 1989-2284 (Electronic), <DOI: doi:10.3265/Nefrologia.pre2012.Aug.11667pubmed:23093094>	30.11.2011
D04	Moreno Juan A et al. THE INFLAMMATORY CYTOKINES TWEAK AND TNF? REDUCE RENAL KLOTHO EXPRESSION THROUGH NFkB.. Vol. 22, Páginas 1315 - 1325, ISSN 1533-3450 (Electronic), <DOI: doi:10.1681/ASN.2010101073 pubmed:21719790>	30.06.2011

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 solicitud de patente describe y reivindica el uso de unas moléculas de ARN que tienen una secuencia de identidad del al menos un 80% respecto a las secuencias SEQ ID NO 1, 2 y 3 (SIRNA de NFkBiz) para la fabricación de un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en un humano. Dicho envejecimiento prematuro esta causado por un déficit de la hormona de envejecimiento Klotho. Además se reivindica un método de selección de compuestos para el tratamiento del envejecimiento prematuro en función de la baja expresión de NFkBiz en células tubulares renales que en una muestra de control, en presencia de estos compuestos.

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA

No se ha encontrado en el estado de la técnica ningún documento que describa el uso y método de la solicitud, ni documentos que, solos o en combinación con otros, pudieran llevar al experto en la materia de forma evidente al objeto de la invención, por lo que las reivindicaciones 1 a 11 de la solicitud son nuevas y tienen actividad inventiva según los artículos 6 y 8 de la Ley de Patentes

El documento D01se considera el más cercano del estado de la técnica. Se refiere a un método para el tratamiento del envejecimiento en humanos mediante la regulación, entre otros de inhibidores de NFkB (rev.1, 51, 60). Se trata de procesos de envejecimiento relacionados con la inhibición o reducción de la inflamación mediada por Interleuquina-6 en humanos. Entre estos inhibidores de NFkB no se incluye NFkBiz. Por tanto este trabajo no indica el uso de ningún siRNA de NFkBiz, ni se refiere al envejecimiento prematuro relacionado con un déficit de Klotho por lo que este documento no afectaría a la novedad ni a la actividad inventiva de la invención.

El documento D02 se refiere al uso de RNA de interferencia para disminuir la expresión de MAIL (NFkBiz) (SEQ NO 5, 25 y 26). Estas secuencias no son análogas a las de la invención y además su uso se enmarca en el diagnostico del cáncer. Por tanto este trabajo no afectaría a la novedad ni a la actividad inventiva de la invención.

Los documentos D03 y D04 describen el estado de la técnica en relación con el mecanismo de regulación del envejecimiento al que hace referencia la invención.

El documento D03 relaciona el factor de transcripción NFkB con la regulación a la baja de la hormona antienvjecimiento Klotho. Se concluye que NFkB podría ser una diana que podría potencialmente limitar la inflamación y las consecuencias adversas de la inflamación en el envejecimiento.

En D04 se sugiere que las citoquinas inflamatorias TWEAK y TNFalfa disminuyen la expresión de Klotho mediante la activación de NFkB.