

TARTU ÜLIKOOL

LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND

MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

BIOTEHNOLOOGIA ÕPPETOOL

Timo Tõnis Sikka

***CTNNA2* geenis paiknevate järjestusvariantide mõju elamustejanu kujunemisel**

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad Tõnu Esko, PhD

Evelin Mihailov, MSc

TARTU 2015

## SISUKORD

KASUTATUD LÜHENDID.....	3
SISSEJUHATUS.....	4
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	5
1.1. Isiksus.....	5
1.1.1. Seadumused.....	5
1.1.2. Elamustejanu.....	7
1.2. Ülegenoomsed assotsiatsiooniuringud.....	8
1.2.1. Markerid ülegenoomsetes assotsiatsiooniuringutes.....	8
1.2.2. Valimi suurus ning võimsus.....	9
1.2.3. Leiud ülegenoomsetest assotsiatsiooniuringutest.....	10
1.2.4. Elamustejanu GWAS.....	12
1.3. CTNNA2 geen.....	13
2. EKSPERIMENTAALOSA.....	14
2.1. Töö eesmärgid.....	14
2.2. Materjal ja meetodika.....	14
2.2.1. Valim.....	14
2.2.2 DNA eraldamine ja kvaliteedikontroll.....	16
2.2.3 Genotüpiseerimine restriksioonifragmentide polümorfismi analüüsiga.....	17
2.2.3.1 Praimerite disain.....	17
2.2.3.2. Polümeraasi ahelreaktsioon.....	17
2.2.3.3. Restriksioonifragmentide pikkuspolümorfismi analüüs.....	18
2.2.4. Genotüpiseerimine ja kvaliteedikontroll.....	18
2.2.5. Imputeerimine.....	19
2.2.6. Assotsiatsioonianalüüsid.....	20
2.3. Tulemused.....	20
2.3.1. Assotsiatsioonianalüüside tulemused.....	20
2.3.1.1 Ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüsi tulemused.....	20
2.3.1.2 Elamustejanu assotsiatsioonianalüüs.....	25
2.3.1.3 Juht-kontrollanalüüsi tulemused.....	29
2.3.2. CTNNA2 järjestusvariandi rs7600563 replikatsiooniuringu tulemused.....	34
2.4. Arutelu.....	36
KOKKUVÕTE.....	39

<u>SUMMARY.....</u>	<u>40</u>
<u>TÄNUAVALDUSED.....</u>	<u>41</u>
<u>KIRJANDUSE LOETELU.....</u>	<u>42</u>
<u>KASUTATUD VEEBIAADRESSID.....</u>	<u>50</u>
<u>LISAD.....</u>	<u>51</u>
<u>Lisa 1. DNA ümbersadestamise protokoll.....</u>	<u>51</u>
<u>Lisa 2.....</u>	<u>52</u>
<u>Lisa 3.....</u>	<u>55</u>
<u>Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks.....</u>	<u>58</u>

## KASUTATUD LÜHENDID

<i>CTNNA2</i>	<i>Catenin cadherin-associated protein, alpha 2</i> , valku $\alpha N$ -kateniin kodeeriv geen
<i>C4orf50</i>	<i>Chromosome 4 open reading frame 50</i>
<i>CARD11</i>	<i>Caspase recruitment domain family, member 11</i>
<i>CI</i>	<i>Confidence Interval</i> , usaldusintervall
<i>CPEB3</i>	<i>Cytoplasmic polyadenylation element binding protein 3</i>
<i>CR</i>	<i>Call rate</i> , edukalt genotüpileeritud indiviidide protsentuaalne osakaal markeril
<i>CRMP1</i>	<i>Collapsin response mediator protein 1</i>
<i>GNA12</i>	<i>Guanine nucleotide binding protein (G protein) alpha 12</i>
<i>GWAS</i>	<i>Genome-wide association study</i> , ülegenoomne assotsiatsiooniuuring
<i>HWE</i>	<i>Hardy-Weinberg equilibrium</i> , Hardy-Weinbergi tasakaalustatus
<i>IDE</i>	<i>Insulin-degrading enzyme</i>
<i>JAKMIP1</i>	<i>Janus kinase and microtubule interacting protein 1</i>
<i>LD</i>	<i>Linkage Disequilibrium</i> , ahelduse tasakaalustamatus
<i>MAF</i>	<i>Minor Allele Frequency</i> , minoorse alleeli sagedus
<i>MARCH5</i>	<i>Membrane-associated ring finger (C3HC4) 5</i>
<i>NEO-PI-R</i>	<i>Revised NEO Personality Inventory</i>
<i>OR</i>	<i>Odds ratio</i> , šansside suhe
<i>PCA</i>	<i>Principle Component Analysis</i> , peakomponentanalüüs
<i>SD</i>	<i>Standard deviation</i> , standardhälve
<i>SE</i>	<i>Standard error</i> , standardviga
<i>SNP</i>	<i>Single nucleotide polymorphism</i> , ühenukleotiidne polümorfism
TÜ EGV	Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu

## SISSEJUHATUS

Isiksuse uurimine on oluline nii psühholoogia kui ka epidemioloogia ja meditsiini vaatepunktist, sest seadumused on seotud inimeste füüsilise tervisega ning tihti on need põhjuslikud (Möttus et al., 2012a). Isiksust, mis on kompleksne tunnus, mõjutab suurel määral inimese geneetiline taust (50%), vähemal määral ka keskkond (Riemann et al., 1997).

Isiksuse uurimine aitab mõista ka bioloogilisi signaalradu, mis mõjutavad teatud käitumislaidi. Kuigi osa isiksuseomadusi on iseloomulikud kõigile inimestele, siis on igal inimesel oma profiil, kus teatud isiksuseomadused on erinevas skaalas esindatud. Nii võimaldavad geneetilised riskiskoorid jagada inimesi riskirühmadesse, mis meditsiini kontekstis aitab neile rühmadele tõhusamalt rakendada ennetusmeetodeid.

Viimaste aastate jooksul on ülegenoomsete uuringute käigus leitud hulgaliselt uusi DNA järjestusvariatsioone, mis omavad olulist mõju nii mitmete haiguste kui ka pidevate tunnuste kujunemisel, ning on seeläbi parandanud meie arusaama komplekstunnuste geneetilise aluspõhja kohta. Ka isiksuse uurimisel on hulgaliselt ülegenoomseid assotsiatsiooniuuringuid kasutatud, kuid seni pole mitmeid isiksusega seotud uuringute tulemusi hiljem replitseerida õnnestunud. Sellest tulenevalt on käesoleva töö eesmärk läbi viia kordusuuring, keskendudes *CTNNA2* geenis paiknevate DNA järjestusvariantide mõjule elamustejanu kujunemisel, kasutades selleks hästi iseloomustatud valimit ning ülegenoomseid geneetilisi profile.

Märksõnad: elamustejanu, geneetika, GWAS, *CTNNA2* geen

# 1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1. Isiksus

Isiksuseks nimetatakse indiviidile iseloomulike omaduste kogumit, mille poolest erineb ta teistest ning mis muudab ta isikupäraseks. Isiksuseomadusi on võimalik mõõta isiksusetestidega (Allik et al., 2003). Üks esimesi isiksuseomaduste teste oli Ameerika psühholoogi Robert Woodworthi koostatud test *Woodworth Personal Data Sheet* (WPDS), mis hindas nekrutite vastuvõtlikkust tollal sõjaneuroosi nimetuse all tuntud haigusele (Gibby & Zickar, 2008).

Uue põlvkonna isiksusetooria üheks parimaks näiteks on viie faktori teooria, mille löid Robert R. McCrae ja Paul T. Costa (Costa & McCrae, 1992). Selles teoorias on kesksel kohal baastendentsid ja iseloomulikud kohanemused (McCrae & Costa, 1996). Baastendentsid on tugeva päriliku osakaaluga ajas püsivad seadumused, mis reguleerivad inimese tegevuse üldist suunda ja viisi. Riemanni jt läbiviidud uuring näitas juba 1990ndate lõpus, et üle poole kogu individuaalsest erinevusest saab seletada geneetiliste teguritega (Riemann et al., 1997). Iseloomulikud kohanemused on elu jooksul omandatud hoiakud, harjumused ja suhtumised – need kujunevad keskkonnategurite ja baastendentside kokkupuutel (Allik et al., 2003; McCrae & Costa, 1996).

### 1.1.1. Seadumused

Seadumus on inimese suhteliselt püsiv kalduvus sarnastes olukordades mingil kindlal viisil käituda, tunda ja mõelda. Põhilisi seadumusi on viis ning vastavalt kõige levinumas seadumusi mõõtvast isiksuseküsimustikus NEO PI-R (*Revised NEO Personality Inventory*) on nendeks

- 1) **neurootilisus** – seadumus kogeda negatiivseid emotsioone, nagu hirm, viha, kurbus jt. Neurootilisel inimesel on soodumus emotsionaalseks häirituseks, mis avaldub depressioonis, vaenulikkuses ja võimetuses kontrollida oma implusse pingelistes olukordades;
- 2) **ekstravertsus** – seadumus kogeda positiivseid emotsioone. Ekstravert on aktiivne, jutukas ja enesekindel ning eelistab rahvarohkeid kogunemisi;
- 3) **avatus kogemusele** – seadumus, mis paneb inimest tundma huvi ümbritseva maailma ja oma siseelu vastu. Avatud inimene võtab kergesti omaks uusi ideid ja mittetraditsioonilisi väärtusi. Vastandina suletud inimene on konservatiiv, kes eelistab vana ja järeleproovitud;

4) **sotsiaalsus** – seadumus usaldada teisi inimesi, olla omakasupüüdmatu ja leplik. Sotsiaalne inimene on valmis teisi aitama ning on veendunud, et teised vastavad talle samaga. Seevastu mittedotsiaalne inimene on teiste suhtes skeptiline ning antagonistlik;

5) **meelekindlus** – seadumus kontrollida oma soove ja impulsse. Meelekindel inimene organiseerib oma tegevusi ja elu ette ning viib oma kavatsused ellu isegi siis, kui see nõuab pingutust ja enesedistsipliini (Allik et al., 2003; Costa & McCrae, 1992).

Küsimustikus on esindatud kõigi viie seadumuse 6 alaskaalat ehk fassetti, mis kõik mõõdavad vastava seadumuse ühte külge või avaldust, ning koosneb 240 küsimusest (iga fassetti kohta 8 küsimust), millele tuleb vastata 5-punktilises Likerti skaalas (Costa & McCrae, 1992). Seadumused ja nende täpne jaotus alaskaaladesse on esitatud tabelis 1.

Tabel 1. NEO-PI-R-i alaskaalad (Allik *et al.* 2003, kohandatud).

	<b>Neurootilisus (N)</b>	<b>Ekstravertsus (E)</b>	<b>Avatus (O)</b>	<b>Sotsiaalsus (A)</b>	<b>Meelekindlus (C)</b>
<b>1</b>	Ärevus	Soojus	Fantaasiale	Usaldus	Asjatundlikkus
<b>2</b>	Vaenulikkus	Seltsivus	Kunstile	Siirus	Korralikkus
<b>3</b>	Masendus	Kehtestavus	Tunnetele	Omakasupüüdmatu	Kohusetunne
<b>4</b>	Enesekontroll	Aktiivsus	Tegudele	Järeleandlikkus	Eesmärgipärasus
<b>5</b>	Impulsiivsus	Elamustejanu	Ideedele	Tagasihoidlikkus	Enesedistsipliin
<b>6</b>	Haavatavus	Positiivsed emotsioonid	Väärtustele	Osavõtlikkus	Kaalutlemine

Seadumusi iseloomustab veel ülekeeleline ja -kultuuriline universaalsus, mida näitab asjaolu, et praeguseks on NEO PI-R-i adapteeritud ligi 40 keelde, sealhulgas ka eesti keelde (McCrae & Terracciano, 2005). Eesti keelde adapteeriti küsimustik 2000. aastal Kallasmaa jt poolt (Kallasmaa et al., 2000) Lisaks on seadumused ajaliselt stabiilsed, sõltumatud hindamismeetodist ja vaimsetest võimetest (Allik et al., 2003).

Kuigi NEO PI-R on kõige levinum isiksuseküsimustik, on selle kasutamise käigus ilmnenu, et osadel noorukitel (2%) on teatud küsimustegruppidele vastamisega raskusi (McCrae et al., 2005). Seetõttu uuendasid McCrae ja Costa 2005. aastal 37 küsimust, et need oleksid selgemini arusaadavamad või sobivamad hindamiseks vastavat fassetti – tulemuseks isiksuseküsimustik NEO PI-3 (McCrae et al., 2005). NEO PI-3 kasutamine isiksuse uurimisel

erinevates kultuurides on näidanud, et varases noorukieas (alla 14-aastaste) inimeste hulgas töötab see samahästi või vaid mõnevõrra paremini kui NEO PI-R (De Fruyt et al., 2009).

Isiksuse uurimine on peale psühholoogia oluline ka epidemioloogia ja meditsiini vaatepunktist, sest seadumused on seotud inimeste füüsilise tervisega ning tihti on need põhjuslikud (Bogg & Roberts, 2004; Goodwin & Friedman, 2006; Mõttus et al., 2012a). Erinevate uuringute käigus on leitud seoseid seadumuste ning tervisliku toitumise, füüsilise aktiivsuse, alkoholi (liig)tarvitamise ja suitsetamisega, lisaks ka seksuaalsel teel levivate haiguste esinemisega (Malouff et al., 2007; Mõttus et al., 2012b; Rhodes & Smith, 2006; Terracciano & Costa, 2004; Terracciano et al., 2008). Eelpool mainitud uuringutega leiti, et sellist käitumist mõjutavateks teguriteks on neurootilisuse, meelekindluse, avatuse või – eriti riskikäitumisega seoses – ekstravertsuse (täpsemalt elamustejanu) kõrgemad tasemed.

### **1.1.2. Elamustejanu**

Elamustejanu on seadumus, mis avaldub indiviidi kalduvuses otsida põnevust (Zuckerman & Kuhlman, 2000). Need individid, kes elamustejanu mõõtvates testides saavutavad kõrge tulemuse, ihkavad intensiivseid aistinguid ja otsivad kõrget virgutuse taset. Nii on nad altimad võtma ebavajalikke riske nagu langevarjuga hüppamine ja osalevad meelsasti ohtlikes tegevustes mõnu saavutamiseks. Riskialdis käitumine on iseloomulikum noorukitele ja noorematele täiskasvanutele, eelkõige meestele (Costa et al., 2001; McCrae & Terracciano, 2005; Terracciano et al., 2005, 2011). Elamustejanu on oluline seadumus, sest seda seostatakse ka suitsetamise, alkoholi ja teiste mõnuainete tarvitamise, hasartmängude mängimise ja ebatavalise seksuaalkäitumisega (Terracciano et al., 2011; Zuckerman & Kuhlman, 2000).

Vastavalt käitumist uurivatele geneetilistele uuringutele on umbes 50% elamustejanust päritav (Jang et al., 1998). Samas on vähe teada, millised geneetilised variandid täpselt elamustejanu ja teisi impulsiivsusega seotud seadumusi põhjustavad (Bevilacqua et al., 2010; Jang et al., 1998; McCrae et al., 2011; Stoel et al., 2006; Terracciano et al., 2011).

Geneetiliste variantide leidmiseks komplekstunnuste jaoks on heaks analüütiliseks strateegiaks ülegenoomsed assotsiatsiooniuuringud (Wang et al., 2005). Nii on ülegenoomseid assotsiatsiooniuuringuid püütud rakendada ka isiksuse uuringutes.

Näiteks 2012. aastal de Moor'i jt poolt isiksuse uurimiseks läbiviidud meta-analüüsi käigus (N=17 375) leiti kaks DNA järjestusvarianti, millest üks oli seotud avatusega seiklustele ning teine meelekindlusega (de Moor et al., 2012). Viimastel aastatel on uuringud leidnud mitmeid järjestusvariante, mis on seoses erinevate seadumustega (näiteks elamustejanuga), kuid alati pole õnnestunud leide hiljem replitseerida (Terracciano et al., 2011).

## **1.2. Ülegenoomsed assotsiatsiooniuringud**

Inimese genoomis esinevad geneetilised järjestusvariandid DNAs mõjutavad inimese tunnuseid ja fenotüüpi ning võivad suurendada indiviidi riski haigestuda (Zondervan & Cardon, 2007). Mendeliaalsete haiguste puhul on haiguste tuvastamine hõlpsam, sest kindlale haigusele vastab kindel genotüüp, mis tuleneb sellest, et mutatsioon(id) on ühes geenis ning omavad väga suurt efekti fenotüübile (Ng et al., 2010). Komplekshaiguste ehk multifaktoriaalsete haiguste kujunemist mõjutavad väga paljud väikese efektiga DNA järjestusvariandid, lisaks ka keskkond. Eelmainitu tõttu on komplekshaiguste geneetilise tausta uurimine keerukam (Zondervan & Cardon, 2007).

Üheks pakutud analüütiliseks meetodiks, mis on osutunud edukaks, on ülegenoomsed assotsiatsiooniuringud (*Genome-Wide Association Studies*, GWAS) (Manolio et al., 2009; Risch & Merikangas, 1996). Ülegenoomne assotsiatsiooniuring kujutab endast juht-kontrolluuringut, mis võrdleb kahe grupi (haigust põdevate ehk juhtude ja tervete ehk kontrollide) indiviidide DNA-d, ja põhineb hüpoteesil, et geneetilise markeri ühe alleeli suurem esinemissagedus haigete hulgas viitab haiguse ning järjestusvariandi seosele (Kruglyak, 1999).

### **1.2.1. Markerid ülegenoomsetes assotsiatsiooniuringutes**

Kõige enam levinud variatsioonideks inimese genoomis on ühenukleotiidsed polümorfismid (*single nucleotide polymorphisms*, SNP-d). Assotsiatsiooniuringutes kasutatakse geneetiliste markeritena just SNP-sid, keskmiselt esineb SNP üks kord iga 300 aluspaari kohta (The 1000 Genomes Project Consortium, 2010). Assotsiatsiooniuringud sõltuvad aheldatuse tasakaalustamatusest (*linkage disequilibrium*, LD). LD iseloomustab genoomis lähedalt paiknevaid markereid, mille alleelide kombinatsioonid esinevad populatsioonis kõrgema (või madalama) sagedusega, kui individuaalse alleelisageduste põhjal võiks eeldada (Weiss et al., 2002).

Haigusi uurivate assotsiatsiooniuuringute efektiivseks teostamiseks on oluline teada LD struktuuri üle genoomi. Selleks viidi läbi HapMap-projekt (International HapMap Project, [www.hapmap.org](http://www.hapmap.org)), mis on tuvastanud enamik SNP-sid (üle 3 miljoni SNP), mida ülegenoomsete assotsiatsiooniuuringutes kasutatakse (Frazer et al., 2007). 1000 Genoomi Projekti raames (The 1000 Genomes Project Consortium, 2012), kus on nüüdseks sekveneeritud 2535 inimese genoomid 26 populatsioonist, on tuvastatud üle 78 miljoni SNP<sup>1</sup>. LD olemasolust tulenevalt on võimalik kasutada nn *tag*-SNP-sid, mis kirjeldavad SNP-de gruppe ehk haplotüübiplukke. Nii on vaja vähem genotüpiseerida, mis on rahaliselt odavam ja tehniliselt vähem mahukas (Gabriel et al., 2002).

Ehkki praegu kasutusel olevad kommertsiaalsed kiibid sisaldavad mitusada tuhat kuni isegi mitu miljonit SNP-d, ei pruugi need sisaldada uuritavat SNP-(si)d ning pole finantsiliselt otstarbekas vaadeldava SNP-(d)e suhtes kohandatud kiipe tellida (Spencer et al., 2009). Ühe võimaliku lahendusena on kasutusele võetud markerite imputatsioon. Markerite imputatsioon tähendab protsessi, kus üritatakse ennustada genotüüpe, mida pole uuritavas valimis otse genotüpiseeritud (Marchini & Howie, 2010).

Imputeerimise tulemusena suurendatakse SNP-de arvu, mida ülegenoomse assotsiatsiooniuuringu käigus testitakse. See omakorda tõstab uuringu võimsust, võimaldab leida või üle kaardistada fenotüübilist efekti põhjustavaid geneetilisi variante ning hõlbustab võrrelda erinevaid uuringuid (Marchini & Howie, 2010; Spencer et al., 2009).

### **1.2.2. Valimi suurus ning võimsus**

GWAS-ide üheks eripäraks on see, et komplekstunnustele leitud geneetilised faktorid on väikese efektiga (Cardon & Bell, 2001). Seega on GWAS-ide puhul on väga tähtsal kohal valim, et saavutada piisav 80%-line statistiline võimsus tuvastamiseks assotsiatsiooni SNP ja uuritava fenotüübi vahel. Alati ei piisa vaid ühest populatsiooni kohordist, et saavutada eelmainitud statistiline võimsus, sest juhte võib esineda liiga vähe (Reich & Lander, 2001).

Lisaks valimi suurusele mõjutavad GWAS-i võimsust mitmed tegurid, nagu LD seostuse määr *tag*SNP ja fenotüüpi määrava variandi vahel, mitmene testimine ja efekti omava variandi vähemesineva alleeli sagedus (*Minor Allele Frequency*, MAF) (Cardon & Bell, 2001). Mitmete statistiliste testide tegemine, kus analüüsitakse sadu tuhandeid markereid, toob kaasa

---

1 - [ftp://ftp.1000genomes.ebi.ac.uk/vol1/ftp/release/20130502/README\\_phase3\\_callset\\_20150220](ftp://ftp.1000genomes.ebi.ac.uk/vol1/ftp/release/20130502/README_phase3_callset_20150220)

valepositiivsete tulemuste avaldumise (Altshuler et al., 2008). Seetõttu on GWAS-ide puhul kasutusele võetud  $p$ -väärtuse nivoo  $5 \times 10^{-8}$  (Risch & Merikangas, 1996).

Assotsiatsiooni tugevuse hindamisel kasutatakse šansside suhet (*Odds Ratio*, OR), mis näitab, mitu korda erineb uuritava geneetilise variandi esinemise šanss juhtgrupis võrreldes kontrollgrupiga (Bland & Altman, 2000). Kui OR on 1, tähendab see, et geneetilisel variandil puudub efekt riskile.

GWAS-i kui juht-kontrolluuringu optimaalseks teostamiseks on oluline juhtude ja kontrollide hoolikas valimine. Suurte valimite puhul, mis võivad hõlmata indiviide erinevatest populatsioonidest, tuleb vältida fenotüübi heterogeensust, sest see põhjustab uuringu statistilise võimsuse mitmekordset langust (Burton et al., 2009). Juht- ja kontrollrühmade valimine geneetiliselt struktureeritud populatsioonist võib põhjustada olukorra, kus tuleb esile rohkem vale-positiivseid assotsiatsioone ning tõelised efektid jäävad märkamata (Marchini et al., 2004). Populatsiooni geneetilise struktureerituse ehk stratifikatsiooni kontrollimiseks kasutatakse peakomponentanalüüsi (*Principal Component Analysis*, PCA), mis võimaldab võimaldab korrigeerida ainult neid lookuseid, mille alleelisagedus erinevate alampopulatsioonide vahel on erinev (Patterson et al., 2006; Price et al., 2010).

Hoolikalt valitud juhtude ja kontrollide suurem arv annab GWAS-ile suurema statistilise võimsuse (Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007). Seda kinnitab Berndt'i jt poolt läbi viidud ülegenoomne meta-analüüs ( $N \sim 265\,000$ ), kus uuriti inimeste antropomeetrilisi näitajaid. Leiti 165 lookust, mis olid assotsiatsioonis kehamassiindeksi, pikkuse ning vöö -ja puusaümbermõõdu suhtega, kusjuures 11 neist kirjeldati esmakordselt. Antud uuringus võrreldi süstemaatiliselt uuritavate tunnuste suhtes äärmuslikult jaotunud ekstreemseid indiviide ja indiviidide kogujaotust (Berndt et al., 2013). Tulemustest saab järeldada, et tunnuse suhtes ekstreemsete indiviidide uurimine võib lisada statistilist võimsust, on finantsiliselt odavam ning kokkuvõttes aidata leida tunnusega seotud lookuseid (Berndt et al., 2013).

### **1.2.3. Leiud ülegenoomsetest assotsiatsiooniuuringutest**

Seni on suuremahuliste GWAS-idega uuritud mitmeid komplekshaiguseid (nt rinna- ja eesnäärmevähk, tüüp 1 ja 2 diabeet, Crohn'i tõbi ja reumatoidartriit) ja pidevaid tunnuseid (nt lipiidide tase ja pikkus) (Welter et al., 2014). Nii on nende uuringute käigus leitud hulgaliselt

uusi geneetilisi lookuseid ja geene, mis on seostatud eelsoodumusega nende haiguste suhtes või pidevate tunnuste väljakujunemisel (Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007).

Praeguseks on ülegenoomsete assotsiatsiooniuringutega tuvastatud üle 3000 SNP rohkem kui 700 haiguse või kompleksse tunnuse kohta (Welter et al., 2014). Joonisel 1 on kujutatud SNP-d ja nendega assotsieerunud tunnused ( $p$ -väärtusega  $\leq 5.0 \times 10^{-8}$ ), mis seni on GWAS-idega leitud (2014. aasta mai seisuga).

Hoolimata sellest, et GWAS-idega on leitud suurel hulgal uudseid seoseid, kirjeldavad need tihti ära vaid väga väikese osa haiguse riskist või tunnuse varieeruvusest. Näiteks haridustaset uurinud GWAS-is leitud kolme järjestusvariandi efekti suurus ( $R^2 \approx 0.02\%$ ) ühe alleeli kohta on võrdeline vaid ühe kuu kooliharidusega (Rietveld et al., 2013).



**Joonis 1.** Karütüüpide joonis, mis kujutab lookuseid, mis on seni GWAS-ide käigus leitud. Kujutatud 22 autosomaalset kromosoomi ja 2 sugukromosoomi. Jooned kromosoomidel viitavad lookusele, millega tunnus on seostunud. Joontega ühendatud värvilised ringid näitavad, millise tunnusega on tegemist. Täispikk legend värvikoodiga tähistatud tunnuste

jaoks on saadaval *National Human Genome Research Institute*'i kodulehel (<http://www.genome.gov/gwastudies/>).

#### 1.2.4. Elamustejanu GWAS

Isiksuse uurimisel on juba hulgaliselt ülegenoomseid assotsiatsiooniuuringuid kasutatud, kuid leide pole alati võimalik replitseerida ning tulemused pole kohati selged (Möttus et al., 2012a; Terracciano et al., 2011). Üks edukamaid on haridustaseme uurimiseks läbi viidud GWAS ja sellele järgnenud meta-analüüs, millega leiti kolm antud tunnusega seostunud järjestusvariatsiooni ning mis andis aimdust, et kompleksete käitumuslike tunnuste geneetiline ülesehitus on füüsiliste tunnuste omast oluliselt hajusam (Rietveld et al., 2013). Elamustejanu uurimiseks viidi läbi ülegenoomne assotsiatsiooniuuring, mille valim koosnes uuritavatest indiviididest kuuest Euroopa päritolu kohordist (N=7860). Uuringu tulemusena leiti mitmeid elamustejanuga seotud DNA järjestusvariante, mis on ära toodud tabelis 2. Kõige tugevam oli seos järjestusvariandi rs7600563 ja elamustejanu hindamiseks kasutatud skaala vahel ( $p = 2 \times 10^{-8}$ ). See SNP paikneb geenis *CTNNA2* (*catenin cadherin-associated protein, alpha 2*), mis kodeerib valku  $\alpha N$ -kateniin (Terracciano et al., 2011). Iga T-alleeli koopia (esinemissagedus 69%) seostus 0,1 SD võrra kõrgema elamustejanu skooriga NEO PI-3 küsimustikus.

SNP	Chr	Pos	Geen	AL1	AL2	Sagedus	$\beta$	SE	SE suund	<i>p</i> -väärtus
rs7600563	2	80.57	CTNNA2	t	g	69 (58–73)	0.94	0.17	++++++	$2.04 \times 10^{-8}$
rs17019225	3	80.57	CTNNA2	a	t	30 (27–42)	-0.90	0.18	----?–	$3.80 \times 10^{-7}$
rs6547311	4	80.56	CTNNA2	c	g	28 (24–33)	-0.89	0.18	-----	$5.16 \times 10^{-7}$
rs6547313	5	80.57	CTNNA2	a	g	69 (58–73)	0.87	0.17	++++?+	$5.48 \times 10^{-7}$
rs6742029	6	80.57	CTNNA2	a	g	33 (30–45)	-0.82	0.16	-----	$6.16 \times 10^{-7}$
rs1971117	7	80.57	CTNNA2	c	g	69 (57–72)	0.82	0.17	++++++	$1.01 \times 10^{-6}$
rs11902138	8	80.57	CTNNA2	t	c	25 (19–31)	-0.90	0.18	-----	$1.10 \times 10^{-6}$
rs2445234	9	129.01	-	a	g	11 (06–12)	1.25	0.26	+++?+	$1.24 \times 10^{-6}$
rs841086	10	129.01	-	a	g	11 (05–12)	1.21	0.25	++-+++	$1.28 \times 10^{-6}$
rs11126769	11	80.57	CTNNA2	t	c	69 (57–72)	0.80	0.17	++++++	$1.52 \times 10^{-6}$
rs1897771	12	80.57	CTNNA2	a	g	31 (28–45)	-0.79	0.17	-----	$2.17 \times 10^{-6}$
rs1434073	13	80.57	CTNNA2	a	t	69 (58–73)	0.83	0.18	++++?+	$2.17 \times 10^{-6}$
rs4421076	14	27.48	-	a	g	41 (36–44)	-0.73	0.16	-----	$3.02 \times 10^{-6}$
rs10039598	15	27.48	-	a	g	41 (36–44)	-0.73	0.16	-----	$3.24 \times 10^{-6}$

Tabel 2. Kõige tugevamini elamustejanuga assotsieeruvad SNP-d GWAS tulemuste meta-analüüsist.

Lühendid: *Chr* – *chromosome*, kromosoom; *Pos* – positsioon kromosoomil; *AL1* – efektalleel; *AL2* – teine alleel; *sagedus* – efektalleeli esinemise keskmine sagedus (sulgudes sageduse vahemik) kuue kohordi kohta; *SE* – *standard error*, valimi keskväärtuse standardviga.

### 1.3. *CTNNA2* geen

*CTNNA2* on 2. kromosoomi lühemas õlas (2p12-p11.1) paiknev geen suurusega ~1 Mb, mis on konserveerunud üle erinevate liikide. *CTNNA2* ekspresseerub tugevalt kesknärvisüsteemis, eriti neis struktuurides, mis vastutavad mälu, õppimise ja emotsioonidega seotud protsesside eest ning on seotud elamustejanu kalduvuse regulatsiooniga. *CTNNA2* ekspresseeritakse vähesel määral ka teistes kudedes (väljaarvatud testises) (Kask et al., 2011; Terracciano et al., 2011). *CTNNA2* kodeerib rakuseoselist valku  $\alpha$ N-kateniini, mis osaleb rakk-rakk ja rakk-maatriks interaktsioonide regulatsioonis (Kask et al., 2011).

*CTNNA2* järjestusvariante on seostatud bipolaarse häire, tähelepanuvajadus/hüperaktiivuse häire ja skisofreeniaga (Chu & Liu, 2010; Lesch et al., 2008; Scott et al., 2009; Terracciano et al., 2011). *CTNNA2* puudumine hiiremudelites on viidanud sümptomitele, mida on kirjeldatud skisofreenia puhul (Park et al., 2002). Lisaks on hiljuti leitud, et *CTNNA2* ja *CTNNA3* võivad funktsioneerida kasvaja supressoritena ning mutatsioonid neis geenides põhjustavad mitmete kasvujate nagu näiteks kõrivähi teket (Fanjul-Fernández et al., 2013).

## **2. EKSPERIMENTAALOSA**

### **2.1. Töö eesmärgid**

Käesoleva bakalaureusetöö eesmärgiks oli teostada replikatsioonuring kirjanduses varemmainitud geenis *CTNNA2* paiknevale DNA järjestusvariandile rs7600563, mis võib olla seotud elamustejanuga, kasutades selleks Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu (TÜ EGV) geenidoonorite ja harrastuslangevarjurite proove, kellele oli määratud elamustejanu skoor. Töö teiseks eesmärgiks oli teostada juht-kontrolluring elamustejanu uurimiseks, kasutades selleks tunnuse suhtes mõlemas äärmuses olevaid indiviide. Lisaks oli töö eesmärgiks ülegenoomse assotsiatsiooniuuringuga leida uusi geneetilisi markereid, mis võivad olla seotud elamustejanuga.

### **2.2. Materjal ja metoodika**

#### **2.2.1. Valim**

Antud töö raames kasutati harrastuslangevarjurite proove, mis on kogutud koostöös TÜ Psühholoogia Instituudiga Eestis tegutsevate langevarjklubide langevarjuritelt, ja TÜ EGV geenidoonorite proove, mis on kogutud geenidoonoritelt üle Eesti. Uuringus kasutati sihtrühmana langevarjureid nende ekstreemse eluviisi tõttu, milles põhjal võiks eeldada, et nad otsivad rohkem elamusi kui keskmine inimene. Valimisse kaasati geenidoonorid, kes olid täitnud NEO-PI-3 küsimustiku, mille põhjal hinnati nende ekstravertsuse ja ekstravertsuse ühe alaskaala, elamustejanu taset, ja vaid need langevarjurid, kes on teinud vähemalt ühe iseseisva langevarjuhüppe. Kõik uuringus osalenud langevarjurid täitsid samuti NEO-PI-3 küsimustiku.

Ekstravertsuse (E) mõõtmiseks on NEO-PI-3 küsimustikus 48 väidet (iga alaskaala kohta 8), mida inimene hindab vastavalt sellele, kui hästi ja täpselt need tema arvates teda iseloomustavad. Väiteid hinnatakse 5-punktilisel Likert'i skaalal (0 kuni 4; 0 tähendab, et inimene ei ole väitega üldse nõus, ja 4 tähendab, et on väitega täiesti nõus). Ekstravertsuse skooriks summeeritakse kõik alaskaalade skoorid ning see saab olla vahemikus 0 kuni 198. Elamustejanu (E5) mõõtmiseks on küsimustikus 8 väidet ja selle hindamiseks summeeritakse selle kohta käivate väidete hinnangud. Elamustejanu skoor saab olla vahemikus 0 kuni 32. Eelmainitud skoorid arvutas TÜ Psühholoogia Instituudi isiksusepsühholoogia teadur dr Liisi Kööts-Ausmees.

Juht-kontrolluuring uuritava tunnuse suhtes populatsiooni äärmuste strateegiat rakendades viidi läbi harrastuslangevarjurite (juhud) ja TÜ EGV geenidoonoritega (kontrollid), vastavalt 272 ja 294 indiviidi. Juhtudena kasutati kõiki langevarjureid ning kontrollideks sarnase soolise ja vanuselise jaotusega geenidoonoreid, kelle elamustejanu skoor oli võimalikult madal. Juhtude ja kontrollindiviidide sooline ja ealine jaotus on ära toodud tabelites 3 ja 4.

Tabel 3. Sooline jaotus juht-kontrollanalüüsis kasutatud uuringrühmas.

	Mehed	Naised	Kokku
Juhud	178	94	272
Kontrollid	192	102	294

Tabel 4. Ealine jaotus juht-kontrollanalüüsis kasutatud uuringrühmas koos E ja E5 skooridega.

Sugu	Juhud		Kontrollid	
	Mehed	Naised	Mehed	Naised
Keskmine vanus (standardhälve)	33,22 (8,13)	30,72 (5,96)	42,54 (10,22)	42,54 (10,22)
Vanusevahemik	16-60	17-47	18-69	18-47
E5 skoor (standardhälve)	20,13 (5,05)	22,11 (3,99)	13,72 (3,24)	13,61 (3,48)
E5 skoori vahemik	2-32	10-32	6-18	3-18
E skoor (standardhälve)	116,07 (25,19)	133,17 (20,27)	92,70 (19,12)	101,49 (21,62)
E skoori vahemik	30-169	74-172	45-135	44-160

Ülegenoomsetes assotsiatsiooniuuringutes, kus kasutati uuritava tunnuseks ekstravertsuse (E) ja elamustejanu (E5) skoori, oli valimis 2553 indiviidi. Sooline, ealine ning E ja E5 skooride jaotused on ära toodud vastavalt tabelites 5 ja 6.

Tabel 5. Sooline ja ealine jaotus ülegenoomses assotsiatsiooniuuringus, kus uuritava tunnuseks kasutati E ja E5 skoori.

	Mehed	Naised	Kokku
Indiviidide arv	1061	1492	2553
Keskmine vanus (standardhälve)	45,40 (16,89)	46,54 (16,65)	
Vanusevahemik	16-90	17-91	

Tabel 6. Elamustejanu (E5) ja ekstravertsuse (E) skooride jaotus meeste ja naiste vahel.

	Keskmine E5 skoor (SD)	E5 skoori vahemik	Keskmine E skoor (SD)	E skoori vahemik
Mehed	16,09 (5,80)	1-32	101,41 (26,34)	0-182
Naised	14,06 (6,21)	0-32	103,65 (26,90)	0-179

*CTNNA2*-s paikneva järjestusvariandi rs7600563 replikatsioonuringus kasutati juht-kontrollanalüüsiks ja ülegenoomses assotsiatsiooniuuringuks kirjeldatud valimeid.

Käesoleva töö raames teostatavate uuringute läbiviimiseks on geenidonorid andnud informeeritud nõusoleku ning olemas on Tartu Ülikooli inimuuringu eetika komitee kooskõlastus. Samuti on olemas valimisse kuulunud langevarjurite informeeritud nõusolek.

### 2.2.2 DNA eraldamine ja kvaliteedikontroll

Genoomse DNA eraldamine langevarjuritelt kogutud süljeproovidest viidi läbi kasutades *PSP® SalivaGene DNA Kit* -i. DNA eraldamise etapid olid järgmised:

1. Valkude eemaldamine  
*SalivaGene® Collection Module II* sülje kogumistopsist tõsteti 1 ml sülje/DNA stabiliseerimisega 2 ml tuubi. Seejärel lisati tuubi 40 µl ensüümi proteinaas K ja inkubeeriti 48 °C juures 20 minutit iga 5 minuti järel reaktsioonituubi nipsutades.
2. DNA sidumine *RTA® Spin* filtrile  
Reaktsioonituubi lisati 400 µl sidumispuhvrit A ning segati tuubi *vortex*-il. Seejärel tõsteti 700 µl suspensiooni *RTA® Spin* filtriga (edaspidi filter) kogumistuubi, oodati 1 minut ja tsentrifugiti 2 minutit kiirusel 12 000 pööret minutis (*revolutions per minute*, rpm). Eemaldati filter tuubist ja tuub koos filtraadiga visati minema.
3. Filtri esimene pesemine  
Filter tõsteti uude 2 ml kogumistuubi, lisati 500 µl pesemispuhvrit I ning tsentrifugiti 2 minutit kiirusel 12 000 rpm. Eemaldati filter tuubist ja tuub koos filtraadiga visati minema.
4. Filtri teine pesemine  
Filter tõsteti uude 2 ml kogumistuubi, lisati 600 µl pesemispuhvrit II ning tsentrifugiti 2 minutit sagedusel 12 000 rpm. Eemaldati filter tuubist ja tuub visati minema. Seejärel korrati sama pesemisprotsessi. Eemaldati filter tuubist, valati filtraat ära ja tõsteti filter tagasi samasse tuubi ning tsentrifugiti 5 minutit maksimum kiirusel 13 000 rpm kogu etanooli eemaldamiseks.

## 5. DNA elueerimine

Filter asetati 1,5 ml kogumistuubi ning lisati 50 µl elueerimispuhvrit D, inkubeeriti 2 minutit toatemperatuuril ning seejärel tsentrifuugiti 2 minutit kiirusel 12 000 rpm. Pärast seda korrati elueerimist 30 µl elueerimispuhvriga D.

Pärast DNA eraldamist mõõdeti DNA kontsentratsiooni proovis ning hinnati puhtuse taset spektrofotomeetria teel masinaga NanoDrop ND-1000. DNA intaktsust kontrolliti 1%-lisel agarosgeelil. Puhtuse kriteeriumi mitteläbinud proovid ümbersadestati kasutades protokollit, mis on kirjeldatud Lisas 1.

Geenidonorite genomne DNA ekstraheeriti perifeersetest lümfotsüütidest standardseid meetodeid kasutades TÜ EGV labori töötajate poolt.

### 2.2.3 Genotüpiseerimine restriksioonifragmentide polümorfismi analüüsiga

#### 2.2.3.1 Praimerite disain

Geeni *CTNNA2* uuritavat DNA järjestusvarianti rs7600563 sisaldava lõigu amplifitseerimiseks disainiti PCR praimerid. Esmalt kontrolliti antud SNP-d sisaldavat järjestust (1001 ap, võetud *dbSNP* andmebaasist; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>) kõigi SNP-de maskeerimiseks programmiga SNPmasker 1.1 (<http://bioinfo.ut.ee/snpmasker/>). Seejärel disainiti praimerid programmiga Primer3 (<http://bioinfo.ut.ee/mprimer3/>) algseadistusi rakendades. Disainimise tulemusena saadi praimerid (pärisuunaline 5'-TCTGTGACCATTGACCTCCTCCAA ja vastassuunaline 5'-TGGCATCTGTCCTATAATGATCCCCAA), mille kasutamisel on võimalik PCR-i käigus sünteesida 548 nukleotiidi pikkune DNA fragment.

#### 2.2.3.2. Polümeraasi ahelreaktsioon

PCR-is kasutatava reaktsioonisegu kogumaht oli 25 µl ning sisaldas 16,35 µl deioniseeritud vett, 2,5 µl reaktsioonipuhvrit (0,8 M Tris-HCl, 0,2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,2% w/v Tween 20, Solis BioDyne, Eesti), 0,3 µl dNTP-de segu (20 mM dATP, dCTP, dTTP, dGTP, Thermo Scientific, USA), 1,8 µl MgCl<sub>2</sub>-i (25 mM, Thermo Scientific, USA), 1 µl mõlemat praimerit (10 pmol/µl, Metabion International AG, Saksamaa), 0,1 µl Hot FirePol Taq polümeraasi (5U/µl, Solis BioDyne, Eesti) ja 2 µl uuritavat DNA-d kontsentratsiooniga 50 ng/µl. Reaktsioon viidi läbi PCR masinas ThermoScientific® ARKTIK Thermal Cycler.

PCR režiim uuritav DNA-fragmendi amplifitseerimiseks oli järgmine: algne denaturatsioon 95 °C juures, seejärel 35 tsüklit amplifikatsiooni (45 sek, 95 °C; 45 sek, 60 °C; 45 sek, 72 °C) ning lõppelongatsioon 7 minutit 72 °C juures.

PCR-i õnnestumist kontrolliti 1%-lisel agarosgeelil.

### **2.2.3.3. Restriksioonifragmentide pikkuspolümorfismi analüüs**

Pärast PCR-i toimus genotüüpiseerimine restriksioonifragmentide pikkuspolümorfismi (*restriction fragment-length polymorphism*, RFLP) analüüsiga. Restriksiooniks kasutati ensüümi AluI (ThermoScientific, USA; eraldatud bakterist *E. coli*, mis kannab kloonitud *aluI* geeni bakterist *Arthrobacter luteus*), mis tunneb ära 5' AGCT saite ning lõikab DNA-d nukleotiidide G ja C vahelt (optimaalseim reaktsioonitingimus lõikamiseks 37 °C juures 1x Tango puhvris).

RFLP analüüs toimus järgmise protokollil alusel (tootja soovitatud, ThermoScientific, USA):

1. RFLP reaktsiooniseguks lisati 10 µl PCR reaktsioonisegu (DNA-d ~0,1–0,5 µg), 18 µl deioniseeritud vett, 2 µl 10x Tango puhvrit (33 mM Tris-atsetaat, 10 mM Mg-atsetaat, 66 mM K-atsetaat ja 0,1 mg/ml BSA, ThermoScientific, USA) ja 1 µl ensüümi AluI (tarnitud tootja poolt valmistatud segus, mis sisaldab 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0,1 mM EDTA, 0,15% Triton X-100, 0,2 mg/mL BSA and 50% (v/v) glütserooli).
2. Reaktsioonisegu inkubeeriti 37 °C juures üleöö.

AluI lõikab uuritava DNA järjestusvariandi olemasolul PCR produkti nii, et tekivad 426 ap ja 122 ap pikkused fragmendid. Restriksioonifragmendid lahutati 2%-lisel agarosgeelil, mis võimaldas eristada 548 ap, 426 ap ja 122 ap pikkusega fragmente.

### **2.2.4. Genotüüpiseerimine ja kvaliteedikontroll**

Kõikide indiviidide ülegenoomne genotüüpiseerimine teostati Illumina Infinium II tehnoloogiat (Illumina Inc., San Diego, CA, USA) kasutades. Geenivaramu kohordi genotüüpiseerimiseks kasutati kahte kiipi: 770 000 markeriga HumanOmniExpress ja 540 000 markeriga HumanCoreExome-12 v1.0 BeadChip kiipi. Langevarjurid genotüüpiseeriti HumanCoreExome-12 v1.0 BeadChip kiibiga. Genotüüpiseerimine viidi läbi TÜ EGV tuumiklaboris. Analüüsiks kasutati HumanCoreExome ning HumanOmniExpress genotüüpiseerimispaneelides ülekattuvaid markereid, mida oli kokku 233 777.

Genotüpiseeritud andmed läbisid kvaliteedikontrolli järgnevate parameetrite osas:

- 1) edukalt genotüpiseeritud markerite protsentuaalne osakaal (*Call Rate*, CR) nii indiviidi kui iga üksiku SNP kohta;
- 2) minoorse alleeli sagedus (*Minor Allele Frequency*, MAF);
- 3) Hardy-Weinbergi tasakaalustatus (*Hardy-Weinberg equilibrium*, HWE);
- 4) indiviidide vaheline sugulus;
- 5) genotüübi põhjal leitud soo mitte-kokkulangevus proovi fenotüübi informatsiooniga;
- 6) heterosügootsus.

Analüüsides jäid välja individid, kelle CR oli alla 99% ning kelle fenotüübis märgitud sugu ei vastanud genotüübis ilmnenud soole. Lähisugulusastme tuvastamiseks hinnati ühiselt eellaselt päritud alleelide (*identical by descent*, IBD) osakaalu genoomis. Sugulaspaaridest, kus IBD osakaal oli suurem või võrdne 20% ( $PIHAT \geq 0,2$ ) genoomist, eemaldati üks sugulastest. Eemaldati ka ebanormaalselt kõrge või madala heterosügootsusega individid (Wright's inbreeding coefficient  $F - 3$  standardhälvet keskmisest). Lisaks eemaldati SNP-d, mis ei vastanud järgmistele kriteeriumitele:

- 1)  $CR < 95\%$ ;
- 2) HWE testi p-väärtus  $< 10^{-6}$ ;
- 3)  $MAF < 1\%$ ;
- 4) mitte-autosomaalsed markerid ning markerid, mille alleelideks olid A/T või C/G.

HumanCoreExome kiibi korral eemaldati lisaks markerid, mille genotüpiseerimisel ei suudetud usaldusväärset genotüüpe klasterdada (klasti eraldusskoor  $< 0,4$  ja GenTrain skoor vastavalt andmetele  $< 0,6$ ).

Kvaliteedikontrolli läbis 272 langevarjurit, 2281 geenidoonorit ja 195378 SNP-d. Andmete kvaliteedikontrolli ja filtreerimise läbiviimiseks kasutati programme Illumina GenomeStudio 3.1 ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)), PLINK v1.07 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>; Purcell et al., 2007) ja R-3.0.2 (Free Software Foundation, Boston, MA, USA; [www.fsf.org](http://www.fsf.org)). Andmete kvaliteedikontrolli teostas osaliselt TÜ EGV vanemteadur dr Reedik Mägi.

### 2.2.5. Imputeerimine

Illumina HumanOmniExpress ja HumanCoreExome kiibi ühisosas puuduvate markerite imputeerimiseks kasutati referentsgenoomina 1000 Genoomi Projektist (*1000 Genome Project phase 3*; oktoober 2014) pärinevaid andmeid. Imputeerimiseks kasutati programme SHAPEIT v2 (Delaneau et al., 2013) ja IMPUTE v2.2.2 (Howie et al., 2009). Imputeerimise

järgselt eemaldati analüüsist SNP-d MAF-i (<1%) ja imputeerimise kvaliteediskoori alusel (<0.8). Imputeerimise järgselt jäi andmestikku genotüpiseeritud markereid *ca* 190 000 ja lisaks imputeeritud markereid *ca* 7 500 000.

### **2.2.6. Assotsiatsioonianalüüsid**

Geneetiliste markerite ja fenotüübi vahelised assotsiatsioonianalüüsid viidi läbi programmiga SNPTEST v2.5 (Marchini & Howie, 2010). Juht-kontrolluuringus analüüsiti geneetiliste markerite seost elamustejanuga kasutades logistilise regressiooni alleeliefektide aditiivset mudelit. Geneetiliste markerite seost elamustejanu ja ekstravertsusega, kui fenotüübiks oli pidev tunnus, analüüsiti kasutades lineaarse regressiooni alleeliefektide aditiivset mudelit. Analüüsides kasutati kovariaatidena indiviidide vanust, sugu ja suguluste maatriksi põhjal leitud kümme esimest peakomponenti, et kahandada võimalikku populatsiooni stratifikatsiooni.

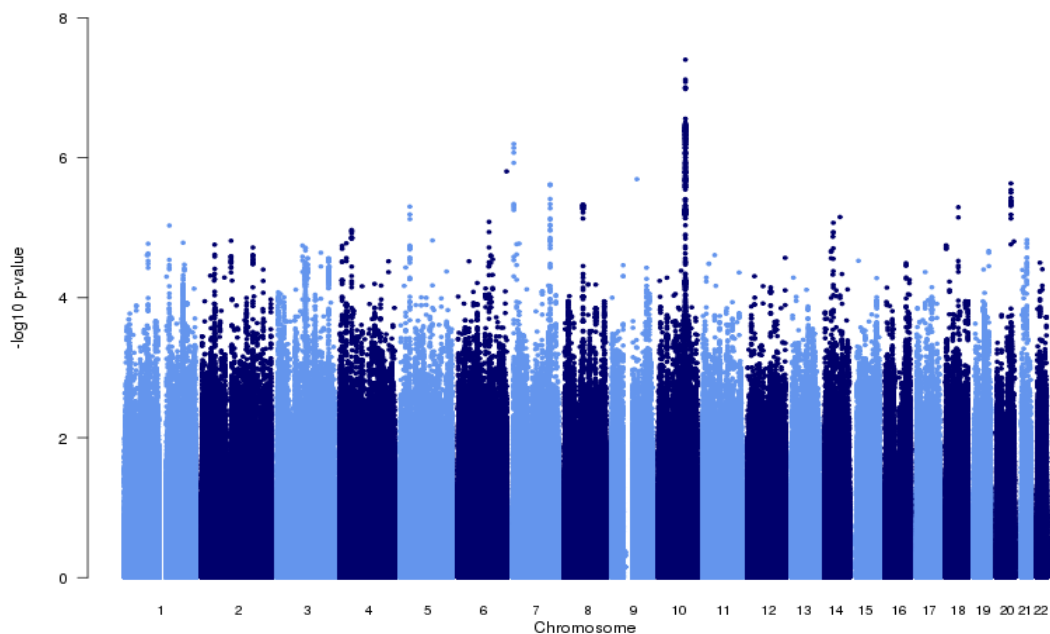
## **2.3. Tulemused**

### **2.3.1. Assotsiatsioonianalüüside tulemused**

Antud töö raames otsiti ülegenoomsetes assotsiatsiooniuuringutes geneetilisi variante, mis oleksid seostunud elamustejanu ja ekstravertsusega. Selleks kasutati pideva tunnuse analüüsides lineaarse regressiooni mudelit ja juht-kontrollanalüüsis logistilise regressiooni mudelit. Kõigis analüüsides kasutati kovariaatidena sugu, vanust ja omavahelise suguluse põhjal arvatud kümme esimest peakomponenti.

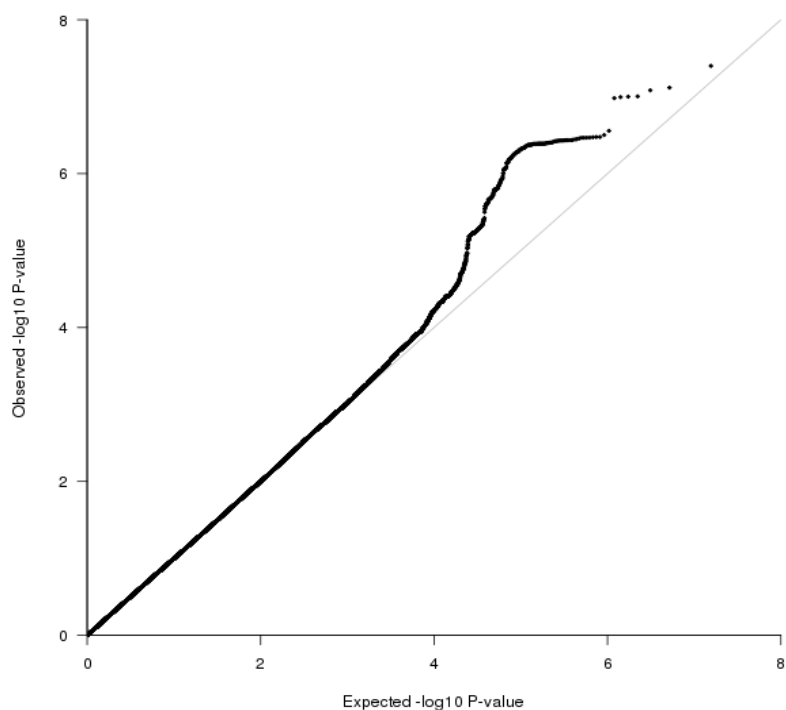
#### **2.3.1.1 Ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüsi tulemused**

Ekstravertsuse analüüsi kaasati 2553 indiviidi (1061 meest ja 1492 naist). Analüüsi käigus leiti 125 markerit kahest genoomsest lookusest, mille p-väärtus oli alla  $1 \times 10^{-6}$  (joonis 2, tabel 7 ja lisa 2). Leiti üks marker - rs11186692, mis oli ülegenoomselt statistilise olulisuse assotsiatsiooniga ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) (tabel 7).



**Joonis 2.** Ekstravertsuse assotsiatsiooniuuringu Manhattan joonis. X-teljel on tunnusega seostunud markerite genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

Populatsiooni stratifikatsiooni hindamiseks arutati välja parameetri  $\lambda$  väärtus. Parameetri hinnang 1,004 näitab, et analüüsitavas andmestikus olulist stratifikatsiooni ei esinenud (joonis 3).

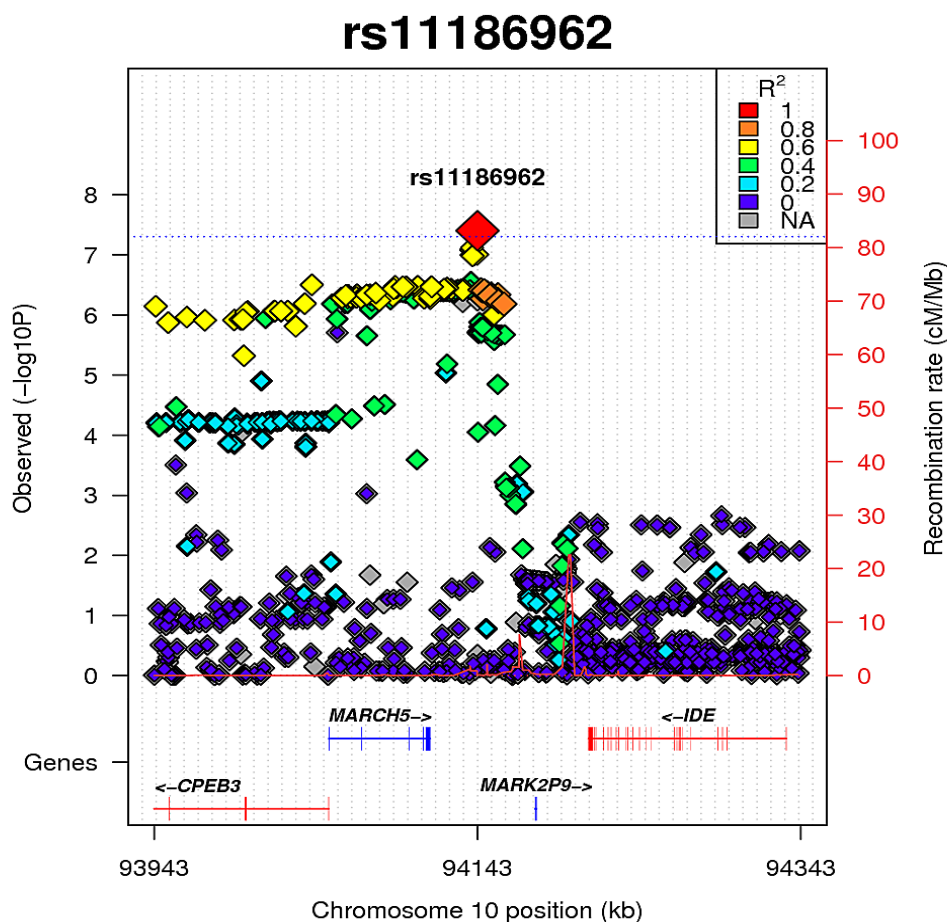


**Joonis 3.** Ekstravertsuse assotsiatsiooniuuringu eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis. X-teljel on toodud eeldatav p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm ja Y-teljel vaadeldud p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

Tabel 7. Ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüsi tulemused. Lähim geen on määratud, kui selle kaugus seost näidanud SNP-st on väiksem kui 100 kb. Tabelis on toodud üheksa kõige tugevama assotsiatsiooniga markerit kromosoomist 10 ja üks marker kromosoomist 7. Kõik uuringus leitud markerid, mille p-väärtus oli alla  $1 \times 10^{-6}$ , on toodud lisas 2. CI märgib beta 95% usaldusintervalli (*Confidence Interval, CI*).

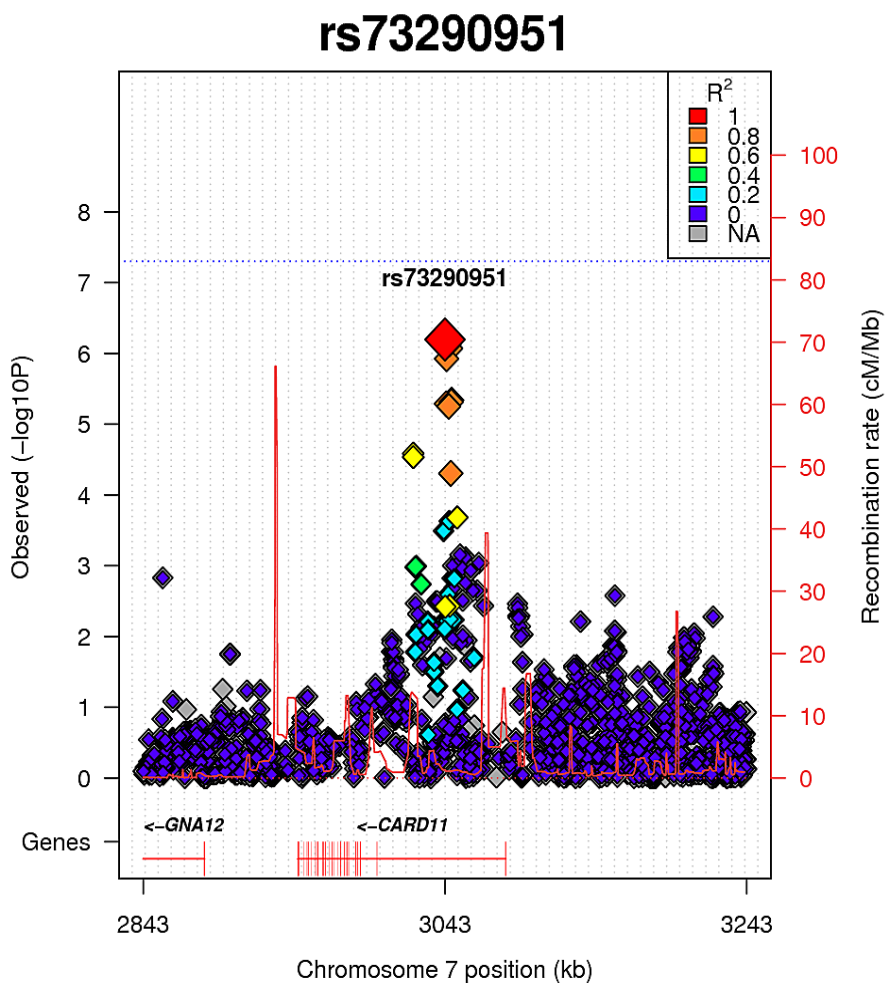
Marker	Kromosoom	Positsioon	Lähim geen	Efektalleel/ teine alleel	Efektalleeli sagedus	Beta	SE	95% CI (min/max)	P-väärtus
rs11186962	10	94142870	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	G/C	0,5500	3,9162	0,7131	2,52/5,31	$3,98 \times 10^{-8}$
rs7911784	10	94139488	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	T/C	0,4644	3,8467	0,7156	2,44/5,25	$7,64 \times 10^{-8}$
rs11186957	10	94139014	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	C/A	0,4627	3,8315	0,7147	2,43/5,23	$8,26 \times 10^{-8}$
rs11186960	10	94142607	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	A/C	0,4637	3,8024	0,7136	2,4/5,2	$9,90 \times 10^{-8}$
rs11186959	10	94140831	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	A/G	0,4634	3,8049	0,7143	2,4/5,2	$1,00 \times 10^{-7}$
rs11186958	10	94139274	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	G/A	0,4632	3,8055	0,7148	2,4/5,21	$1,01 \times 10^{-7}$
rs7912223	10	94139842	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	G/C	0,4634	3,8018	0,7148	2,4/5,2	$1,04 \times 10^{-7}$
rs11186956	10	94138839	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	A/G	0,4278	3,6890	0,7180	2,28/5,1	$2,78 \times 10^{-7}$
rs7914436	10	94040444	CPEB3	A/C	0,5152	3,5612	0,6963	2,2/4,93	$3,15 \times 10^{-7}$
rs73290951	7	3043279	<i>CARD11</i>	T/C	0,2332	-4,1946	0,8423	-5,85/-2,54	$6,36 \times 10^{-7}$

Kromosoomis 10 asuv marker rs11186962, mille p-väärtus oli üleüldiselt statistiliselt olulise tulemusega (p-väärtus  $3,98 \times 10^{-8}$ , imputeeritud SNP), asub lookus 10q23.33 kahe geeni vahelises alas (joonis 4). Nimetatud geenid on *IDE* (*insulin-degrading enzyme*), mis kodeerib tsink-metallopeptidaasi, lagundab intratsellulaarset insuliini ja osaleb rakkudevahelises peptiidsignaalsioonis, ning *MARCH5* (*membrane-associated ring finger (C3HC4) 5*), mis kodeerib mitokondriaalset ubikvitiini ligaasi, osaleb mitokondri morfoloogia, transpordi ja endoplasmaatilise retiikulumiga interaktsiooni regulatsioonis. Lisaks asub markeri rs11186962 lähedal (kaugus < 100kb) geen *CPEB3* (*cytoplasmic polyadenylation element binding protein 3*), mis kodeerib järjestusspetsiifilist RNA-d siduvat valku. Antud geeni seostatakse episoodilise mälu.



**Joonis 4.** Markeri rs11186962 regionaaljoonis. Üleüldiselt statistilise olulisusega marker rs11186962 on märgitud punase rombina, teised markerid teist värvi rombidenä. Markerite värvusega on esitatud nende LD markeriga rs11186962. X-teljel on esitatud markerite füüsilised asukohad 10. kromosoomis ja Y-teljel on markerite p-väärtuste negatiivsed kümnendlogaritmid. Punased jooned märgivad rekombinatsioonimäära. Joonise all on näidatud antud regioonis asuvad geenid.

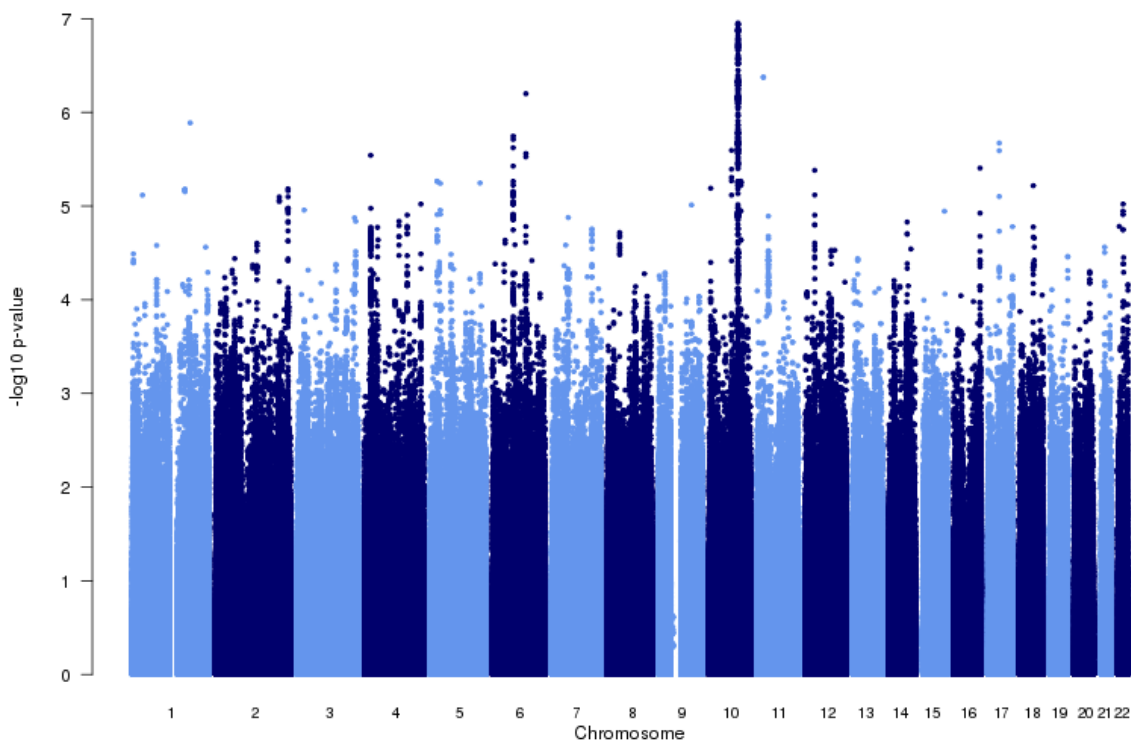
Kromosoomis 7 leiti assotsiatsioon imputeeritud markeriga rs73290951, mis asub lookuses 7p.22.2 geeni *CARD11* (*caspase recruitment domain family, member 11*) intronis (joonis 5). Geeni poolt kodeeritud valk, mis kuulub membraanseoseliste guanülaatkinaaside perekonda, on oluline neuraalsete ja immunoloogiliste kudede diferentsioonis. Geeni on seostatud polükloonaalse B-rakulise lümfotsütoosi, immuunpuudulikkuse ja onkogeense potentsiaaliga. Lisaks asub antud markeri lähedal geen *GNA12* (*Guanine nucleotide binding protein (G protein) alpha 12*), mille poolt kodeeritud membraanseoseline GTPaas mängib olulist rolli epiteelrakkude tiheliiduste kokkupanemisel. Lisaks on *GNA12* seostatud olulise rinnavähi invasiooni ja metastaaside tekke regulaatorina ning mitokondri morfoloogia kujunemisega.



**Joonis 5.** Markeri rs73290951 regionaaljoonis. Kromosoomis 7 paiknev marker rs73290951 on märgitud punase rombina, teised markerid teist värvi rombidenä. Markerite värvusega on esitatud nende LD markeriga rs73290951. X-teljel on esitatud markerite füüsilised asukohad 10. kromosoomis ja Y-teljel on markerite p-väärtuste negatiivsed kümnendlogaritmid. Punased jooned märgivad rekombinatsioonimäära. Joonise all on näidatud antud regioonis asuvad geenid.

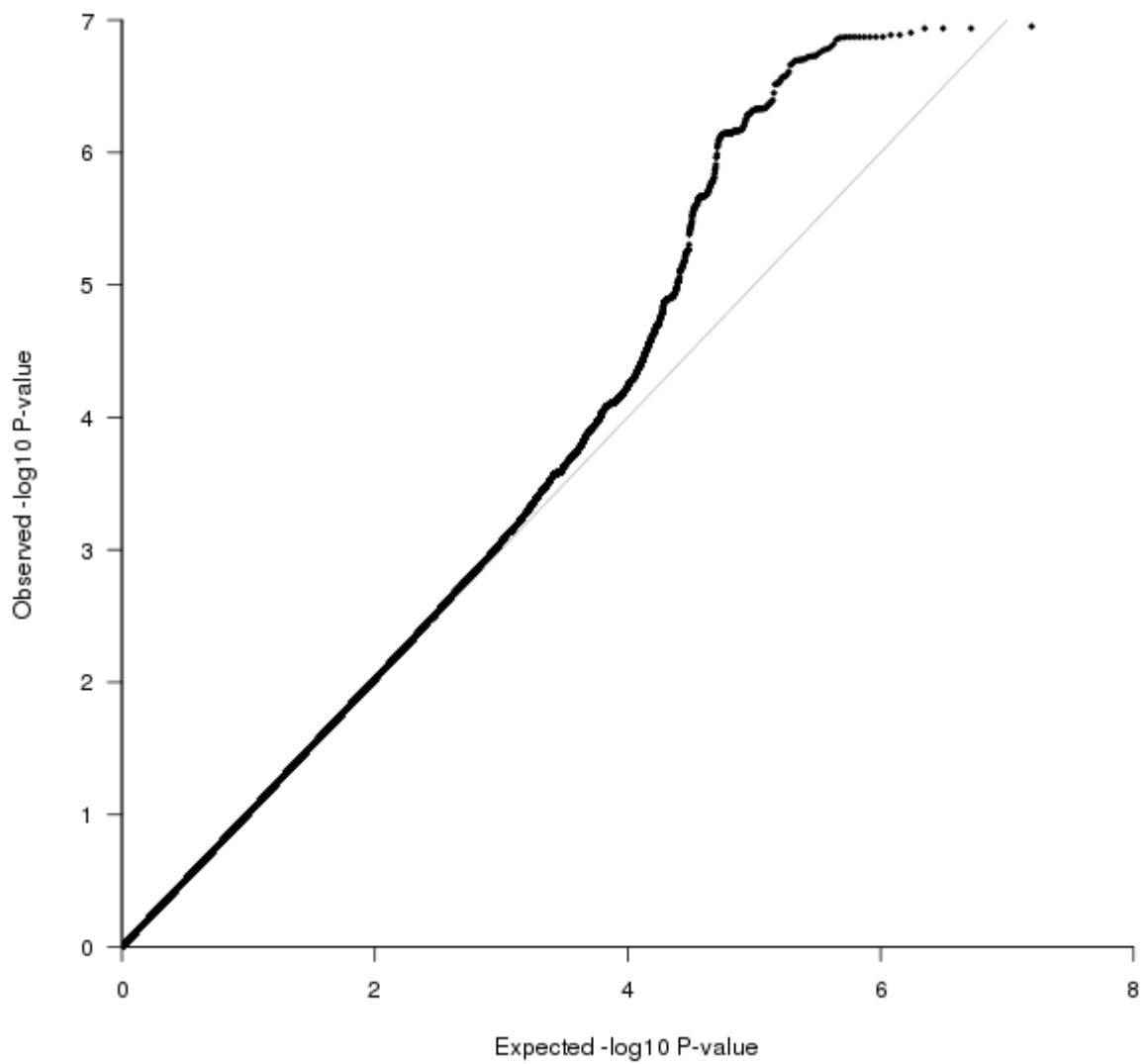
### 2.3.1.2 Elamustejanu assotsiatsioonianalüüs

Elamustejanu assotsiatsioonianalüüsi kaasati 2553 indiviidi (1061 meest ja 2492 naist). Analüüsi käigus leiti 153 markerit 3 genoomsest lookusest (joonis 5, tabel 8, lisa 3), mille p-väärtus oli alla  $1 \times 10^{-6}$ . Ülegenoomselt statistilise olulisusega assotsiatsiooni ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) ei leitud.



**Joonis 6.** Elamustejanu assotsiatsiooniuuringu Manhattan joonis. X-teljel on tunnusega seostunud markerite genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

Populatsiooni stratifikatsiooni hindamiseks arvutati välja parameetri  $\lambda$  väärtus. Parameetri hinnang 1,017 näitab, et analüüsitavas andmestikus olulist stratifikatsiooni ei esinenud (joonis 7).

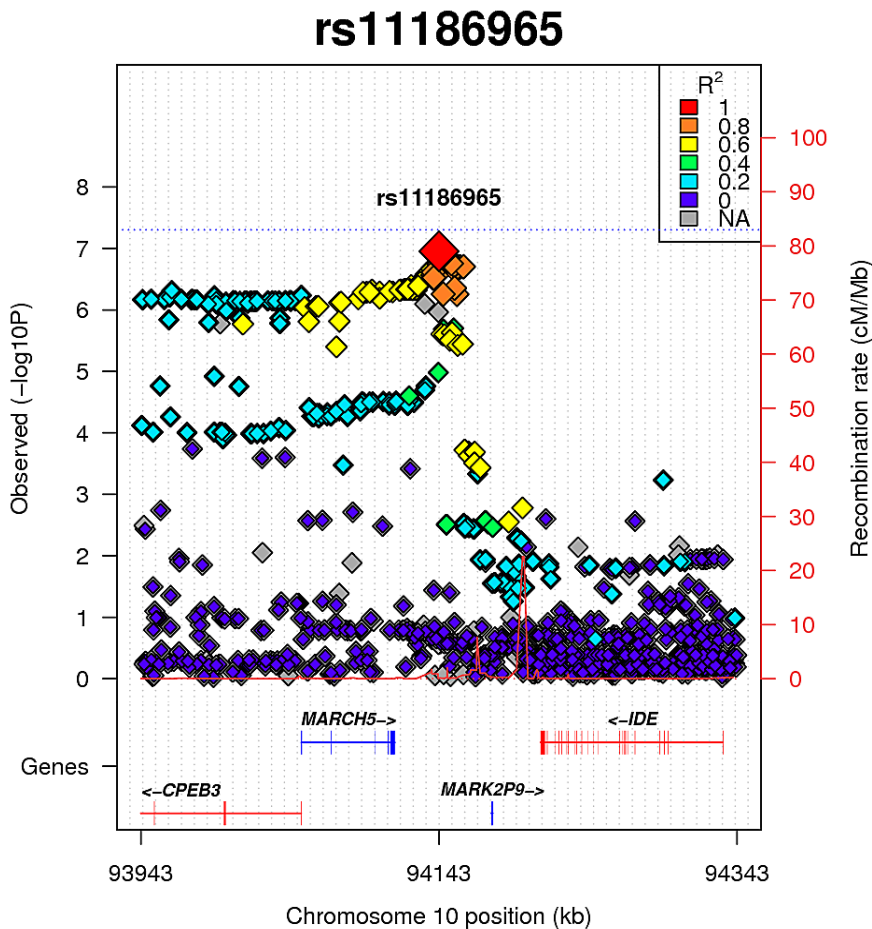


**Joonis 7.** Elamustejanu assotsiatsiooniuuringu eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis. X-teljel on toodud eeldatav p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm ja Y-teljel vaadeldud p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

Tabel 8. Elamustejanu assotsiatsioonanalüüsi tulemused. Lähim geen on määratud, kui selle kaugus seost näidanud SNP-st on väiksem kui 100 kb. Tabelis on toodud 10 kõige tugevama assotsiatsiooniga markerit kromosoomist 10. Kõik antud analüüsis leitud markerid, mille p-väärtus oli alla  $1 \times 10^{-6}$ , on toodud lisas 3. CI märgib beta 95% usaldusintervalli (*Confidence Interval*, CI).

Marker	Kromosoom	Positsioon	Lähim geen	Efektalleel/ teine alleel	Efektalleeli sagedus	Beta	SE	95% CI (min/max)	P-väärtus
rs11186965	10	94143306	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	A/G	0,5223	0,7611	0,1434	0,48/1,04	$1,11 \times 10^{-7}$
rs11186967	10	94143848	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	T/C	0,5223	0,7597	0,1433	0,48/1,04	$1,15 \times 10^{-7}$
rs11186966	10	94143315	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	C/T	0,5223	0,7598	0,1433	0,48/1,04	$1,15 \times 10^{-7}$
rs2259430	10	94147345	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	T/C	0,4761	-0,7605	0,1435	-1,04/-0,48	$1,15 \times 10^{-7}$
rs11186969	10	94144180	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	T/C	0,5180	0,7624	0,1442	0,48/1,0	$1,25 \times 10^{-7}$
rs2257625	10	94145450	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	G/A	0,4761	-0,7579	0,1436	-1,04/-0,48	$1,30 \times 10^{-7}$
rs2257636	10	94145014	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	A/C	0,4761	-0,7579	0,1436	-1,04/-0,48	$1,30 \times 10^{-7}$
rs2259433	10	94147300	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	T/C	0,4759	-0,7571	0,1436	-1,04/-0,48	$1,34 \times 10^{-7}$
rs5786993	10	94146624	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	A/AG	0,4759	-0,7571	0,1436	-1,04/-0,48	$1,34 \times 10^{-7}$
rs913647	10	94146634	<i>IDE, CPEB3, MARCH5</i>	G/T	0,4759	-0,7571	0,1436	-1,04/-0,48	$1,34 \times 10^{-7}$

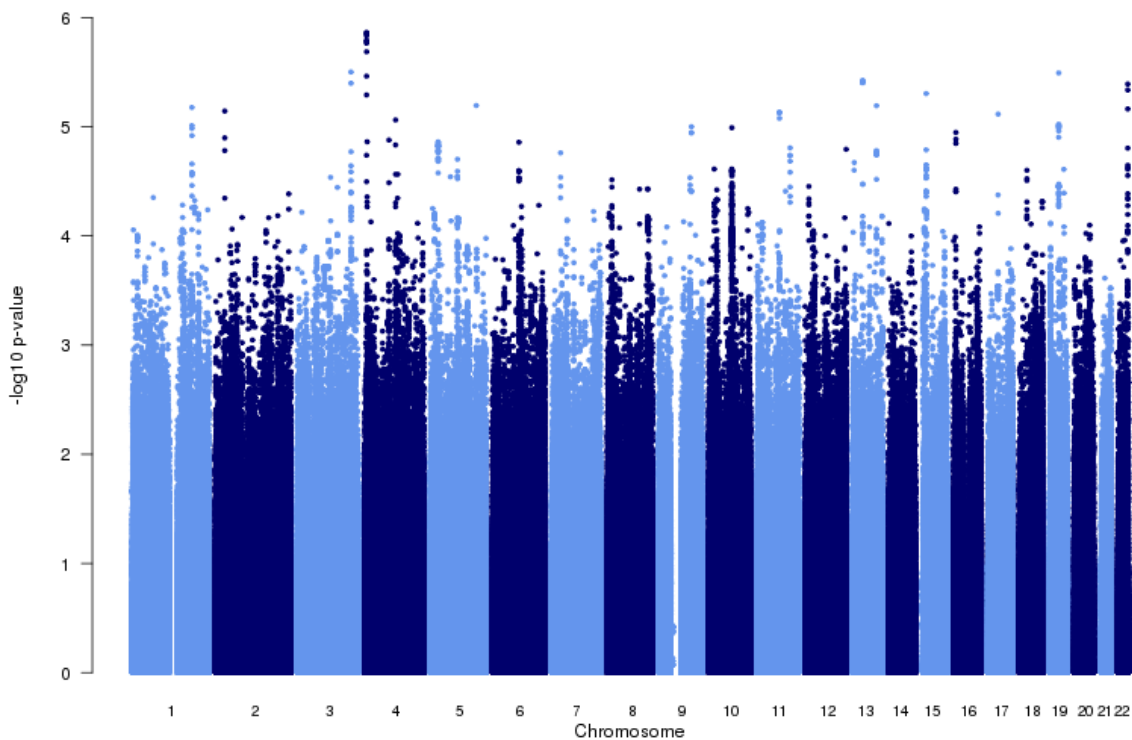
Elamustejanu assotsiatsioonianalüüsis oli statistiliselt kõige väiksema p-väärtusega tulemus lookuses 10q23.33 asuv marker rs11186965 (p-väärtus  $1,11 \times 10^{-7}$ ). Nimetatud marker asub samuti kahe geeni, *IDE* ja *MARCH5*, vahelises alas (joonis 8), nagu on kirjeldatud eelnevalt ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüsi tulemustes (marker rs11186962). Markerite rs11186965 ja rs1118696.vahekaugus on 436 aluspaari.



**Joonis 8.** Markeri rs11186965 regionaaljoonis. Tugeva assotsiatsiooniga ( $p < 1 \times 10^{-6}$ ), ent mitte ülegenoomselt statistilise olulisusega marker rs11186965 on märgitud punase rombina, teised markerid teist värvi rombidenä. Markerite värvusega on esitatud nende LD markeriga rs11186965. X-teljel on esitatud markerite füüsilised asukohad 10. kromosoomis ja Y-teljel on markerite p-väärtuste negatiivsed kümnendlogaritmid. Punased jooned märgivad rekombinatsioonimäära. Joonise all on näidatud antud regioonis asuvad geenid.

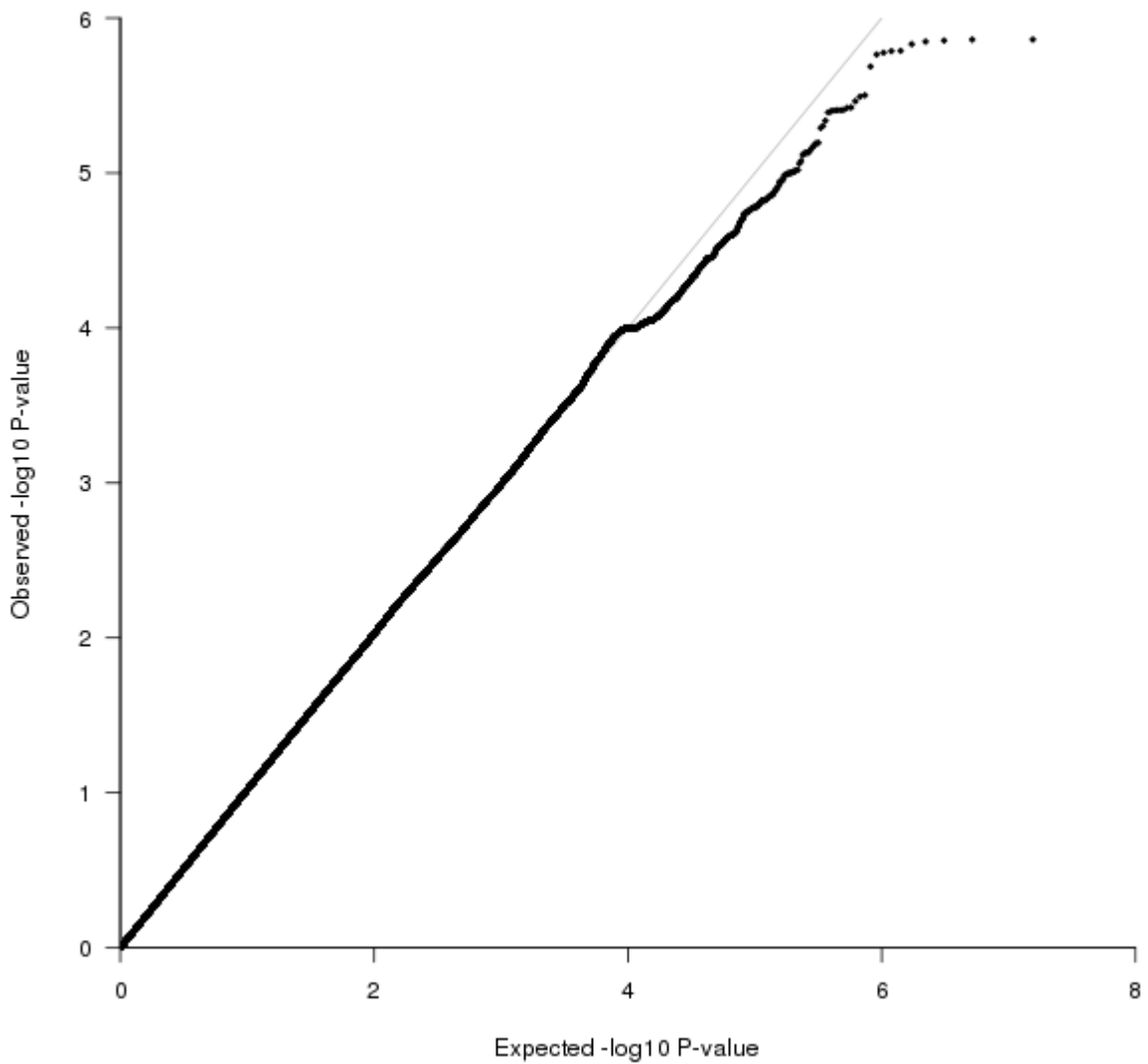
### 2.3.1.3 Juht-kontrollanalüüsi tulemused

Juht-kontrollanalüüsis populatsiooni äärmuste strateegiat kasutades, kuhu kaasati 566 indiviidi (272 juhtu ja 292 kontrolli), ei leitud ühtegi markerit, mis oleks ülegenoomselt statistilise olulisusega ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ). Analüüsis leiti 23 markerit 6 genoomsest lookusest (joonis 9, tabel 9), mille p-väärtus oli alla  $5 \times 10^{-6}$ .



**Joonis 9.** Juht-kontrollanalüüsi Manhattan joonis. X-teljel on tunnusega seostunud markerite genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

Populatsiooni stratifikatsiooni hindamiseks arvutati välja parameetri  $\lambda$  väärtus. Parameetri hinnang 1,027 näitab, et analüüsitavas andmestikus olulist stratifikatsiooni ei esinenud (joonis 10).



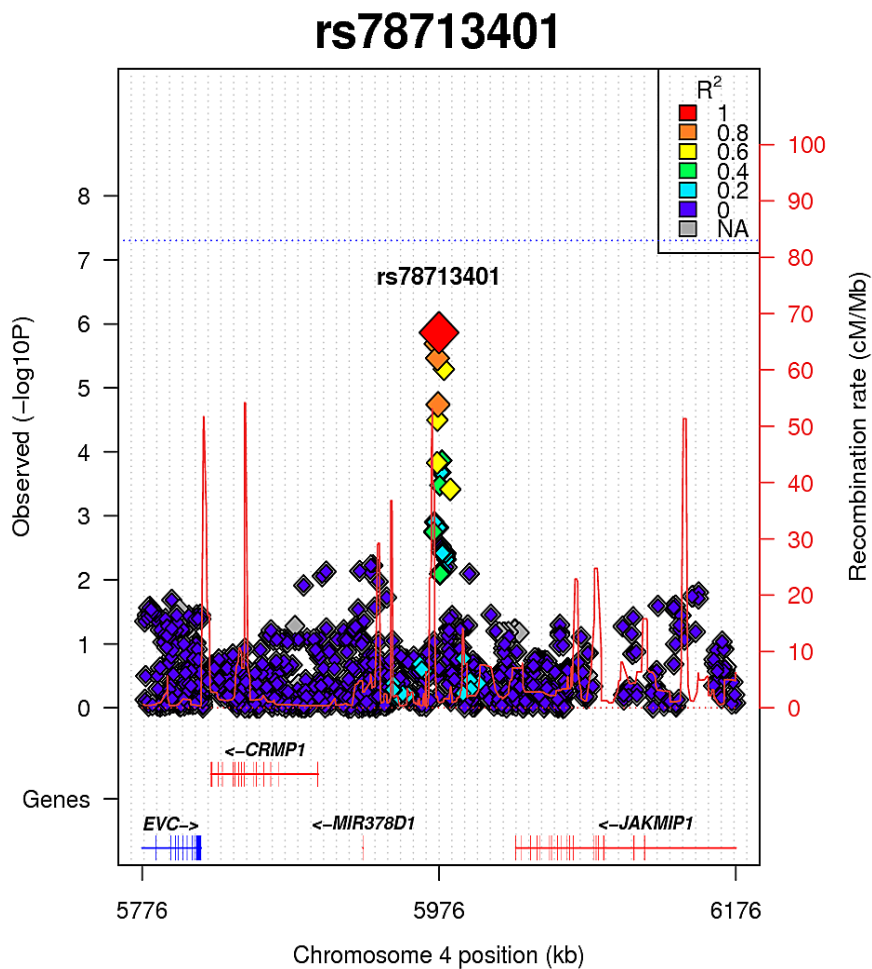
**Joonis 10.** Juht-kontrollanalüüsi eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis. X-teljel on toodud eeldatav p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm ja Y-teljel vaadeldud p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

Tabel 9. Juht-kontrollanalüüsi tulemused. Lähim geen on määratud, kui selle kaugus seost näidanud SNP-st on väiksem kui 100 kb. Tabelis on näidatud kõik markerid, mille p-väärtus oli alla  $5 \times 10^{-8}$ . CI märgib beta 95% usaldusintervalli (*Confidence Interval*, CI).

Marker	Kromosoom	Positsioon	Lähim geen	Efektalleel/ teine alleel	Efektalleeli sagedus	Beta	SE	95% CI (min/max)	P-väärtus
rs78713401	4	5976184	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	C/G	0,4067	0,7178	0,1487	0,43/1,01	$1,38 \times 10^{-6}$
rs10706741	4	5976180	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	A/AC	0,4067	0,7178	0,1487	0,43/1,01	$1,38 \times 10^{-6}$
rs10706741	4	5976118	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	T/C	0,4066	0,7174	0,1487	0,43/1,01	$1,40 \times 10^{-6}$
rs10937698	4	5975032	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	G/A	0,4041	0,7188	0,1491	0,43/1,01	$1,42 \times 10^{-6}$
rs13435807	4	5974386	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	G/A	0,4040	0,7191	0,1494	0,43/1,01	$1,47 \times 10^{-6}$
rs7677764	4	5976100	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	A/C	0,4015	0,7167	0,1495	0,42/1,01	$1,63 \times 10^{-6}$
rs7669282	4	5974834	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	C/G	0,4027	0,7174	0,1496	0,42/1,01	$1,64 \times 10^{-6}$
rs7676635	4	5976214	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	A/G	0,4050	0,7105	0,1484	0,42/1	$1,67 \times 10^{-6}$
rs7677386	4	5975909	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	G/C	0,4048	0,7098	0,1484	0,42/1	$1,72 \times 10^{-6}$
rs13435867	4	5974228	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	C/T	0,4007	0,7104	0,1496	0,42/1	$2,06 \times 10^{-6}$
rs10680281	3	173420201	<i>NLGN1</i>	GCC/G	0,4574	-0,6632	0,1423	-0,94/-0,38	$3,15 \times 10^{-6}$
rs1263210	19	29595731	<i>UQCRCF1, RNA5SP470</i>	A/T	0,6145	-0,6476	0,1391	-0,92/-0,38	$3,22 \times 10^{-6}$
rs16837957	4	5975174	<i>C4orf50, CRMP1, GNAI2</i>	G/A	0,4045	0,6937	0,1494	0,4/0,99	$3,44 \times 10^{-6}$
rs797498	13	51272084	<i>DLEU1</i>	A/G	0,0995	-1,0845	0,2346	-1,54/-0,62	$3,78 \times 10^{-6}$
rs10708176	13	51283214	<i>DLEU1</i>	A/AT	0,0993	-1,0779	0,2332	-1,53/-0,62	$3,80 \times 10^{-6}$
rs797496	13	51270494	<i>DLEU1</i>	T/G	0,0995	-1,0837	0,2348	-1,54/-0,62	$3,92 \times 10^{-6}$
rs1772866	13	51281906	<i>DLEU1</i>	C/G	0,0993	-1,0785	0,2337	-1,54/-0,62	$3,93 \times 10^{-6}$

rs1641277	13	51281904	<i>DLEU1</i>	T/C	0,0993	-1,0785	0,2337	-1,54/-0,62	3,93 x 10 <sup>-6</sup>
rs797504	13	51281242	<i>DLEU1</i>	C/T	0,0992	-1,0785	0,2338	-1,54/-0,62	3,95 x 10 <sup>-6</sup>
rs10936768	3	173419921	<i>NLGN1</i>	T/C	0,4085	-0,7009	0,1520	-1/-0,4	4,00 x 10 <sup>-6</sup>
rs4925440	22	49088916	<i>FAM19A5</i>	T/C	0,2312	0,8059	0,1749	0,46/1,15	4,06 x 10 <sup>-6</sup>
rs4925439	22	49087423	<i>FAM19A5</i>	A/C	0,2298	0,8085	0,1764	0,46/1,15	4,60 x 10 <sup>-6</sup>
rs583420	15	33885512	<i>RYR3</i>	T/C	0,5773	-0,6371	0,1395	-0,91/-0,36	4,97 x 10 <sup>-6</sup>

Juht-kontrollanalüüsi parim tulemus leiti kromosoomis 4 markeriga rs78713401, mis asub lookuses 4p16.2 (joonis 10), geeni *C4orf50* (*chromosome 4 open reading frame 50*) intronis. *C4orf50* funktsioon pole seni teada. Markeri lähedal (kaugus < 100 kb) asub geen *CRMP1* (*collapsin response mediator protein 1*), mille kodeeritud närvisüsteemis ekspresseeruv valk vahendab neuronite semaforiinist sõltuvat signalisatsiooni arenevas ajus ning osaleb reelin-sõltuvas radiaalses neuronite migratsioonis. Lisaks asub mainitud SNP-st ligikaudu 50 kb kaugusel lookuses 4p12.1 geen *JAKMIP1* (*janus kinase and microtubule interacting protein 1*), mille kodeeritud valk ekspresseerub peamiselt neuronites ja lümfoidrakkudes ning kolokaliseerub mikrotuubulitega. *JAKMIP1*-l arvatakse olevat roll T-rakkude selektsioonil tsütotoksilisuse reguleerimises.

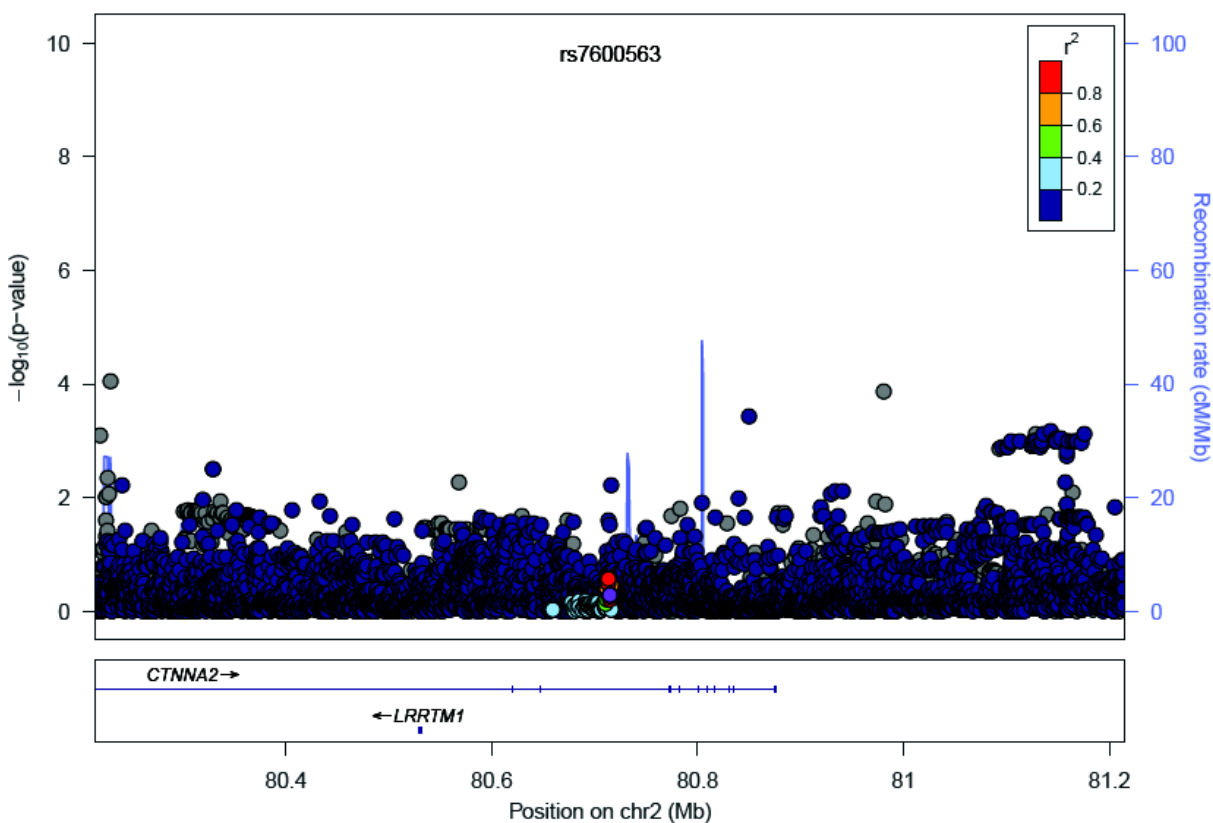


**Joonis 10.** Markeri rs78713401 regionaaljoonis. Juht-kontrollanalüüsi kõige tugevama assotsiatsiooniga marker rs78713401 on märgitud punase rombina, teised markerid teist värvi rombidenä. Markerite värvusega on esitatud nende LD rs78713401-ga. X-teljel on esitatud markerite füüsilised asukohad 10. kromosoomis ja Y-teljel on markerite p-väärtuste negatiivsed kümnendlogaritmid. Punased jooned märgivad rekombinatsioonimäära. Joonise all on näidatud antud regioonis asuvad geenid.

### 2.3.2. *CTNNA2* järjestusvariandi rs7600563 replikatsioonuringu tulemused

Teises kromosoomis, *CTNNA2* geenis paikneva järjestusvariandi rs7600563 replikatsiooniks kasutati juht-kontrollanalüüsiks ja elamustejanu assotsiatsioonianalüüsiks kasutatud valimeid (kirjeldatud eespool).

Analüüsides oli rs7600563 imputeeritud marker, mis jäi alla töös kasutatud imputatsiooni kvaliteedi filtrit ( $< 0.8$ ). Samuti jäid imputatsiooni kvaliteedimääraks kehtestatud väärtusele alla kõik rs7600563-ga tugevas LD-s olnud markerid. Läbi viidud replikatsioon kasutades imputatsiooni kvaliteedipiirist alla jäänud imputeeritud markerit rs7600563 näitas, et antud marker ei andnud statistiliselt olulise p-väärtusega assotsiatsiooni (p-väärtus 0,50) – eelmainitu põhjal rs7600563 meie analüüsides ei replitseerinud (joonis 11).



**Joonis 11.** Markeri rs7600563 regionaaljoonis. Imputatsiooni kvaliteedi suhtes filtreerimata elamustejanu assotsiatsioonianalüüsi tulemustes vaadeldud rs7600563 on märgitud lilla ringina, teised markerid muud värvi ringidena. Markerite värvusega on esitatud nende LD rs7600563-ga. X-teljel on esitatud markerite füüsilised asukohad 2. kromosoomis ja Y-teljel on markerite p-väärtuste negatiivsed kümnendlogaritmid. Sinised jooned märgivad rekombinatsioonimäära. Joonise all on näidatud antud regioonis asuvad geenid.

Lisaks võrreldi rs7600563 restriksioonifragmendi pikkuse polümorfismi analüüsi (*restriction fragment length-polymorphism*, RFLP) ja kiibiandmete imputatsiooni täpsust töös kasutatud langevarjuritel. RFLP-ga määrati genotüüp 261 langevarjuritel, 11 juhul RFLP-ga genotüüpi määrata ei õnnestunud. Imputeeritud genotüüp määrati, kui antud genotüübi ennustatud tõenäosus oli  $\geq 95\%$  (N=149). Kui genotüübi ennustatud tõenäosus oli madalam kui 95%, siis jäi imputeeritud genotüüp määramata (N=112). Imputeeritud genotüüpide määramine viidi läbi vastavalt SNPTEST v2.5 juhendis kirjeldatud standardile (Marchini & Howie, 2010). Imputatsiooni ja RFLP-ga määratud genotüüpide kokkulangevus langevarjuritel valimis oli 88,6% (tabel 10).

Tabel 10. Markeri rs7600563 genotüpiseerimise kokkulangevus RFLP ja imputatsiooni vahel.

RFLP analüüsi genotüüp	Imputeeritud genotüüp	Määratud genotüüpide arv	Imputatsiooni täpsus <sup>1</sup> (%)
GG	GG	4	
GG	GT	3	
GG	TT	0	
			57,1%
GT	GT	44	
GT	GG	5	
GT	TT	5	
			81,5%
TT	TT	84	
TT	GT	4	
TT	GG	0	
TT			95,5
<b>Kokku</b>		<b>149</b>	<b>88,6%</b>
GG	NA	8	
GT	NA	63	
TT	NA	41	
<b>Kokku</b>		<b>112</b>	

Lühendid: NA – *not applicable*, tulemus määramata; RFLP – *restriction fragment length polymorphism*, restriksioonifragmentide pikkuse polümorfismide analüüs.

1 - Imputatsiooni täpsus – RFLP ja imputatsiooni tulemuste kokkulangemise suhe protsentides.

## 2.4. Arutelu

Indiviidi isiksuse kujunemisel mängivad rolli nii geneetilised faktorid kui keskkond (Riemann *et al.*, 2007). Kuna seadumused mõjutavad olulisel määral inimeste käitumist ja seeläbi samuti nende tervist, on oluline uurida isiksuse seadumuste geneetilist tausta. Isiksuse kui komplekstunnuse uurimiseks on seni läbi viidud mitmeid ülegenoomseid assotsiatsiooniuuringuid, kus on leitud markereid, mis võivad olla isiksusetunnustega seotud (Möttus *et al.*, 2012a, 2012b), kuid sageli pole leide õnnestunud replitseerida (Terracciano *et al.*, 2011)

Eelmainitust tulenevalt oli käesoleva töö eesmärgiks uurida elamustejanu mõjutavaid geneetilisi järjestusvariante. Elamustejanu on seni seostatud suitsetamise, alkoholi ja teiste mõnuainete tarvitamise ning ebatavalise seksuaalkäitumisega (Terracciano *et al.*, 2004, 2011, Zuckerman & Kuhlman, 2000).

Käesoleva töö käigus viidi läbi kolm assotsiatsiooniuuringut. Kahes uuringus kasutati uuritava tunnuseks ekstravertsuse ja elamustejanu skoorid. Mõlema uuringu valimisse kaasati 2553 indiviidi (1041 meest ja 1492 naist).

Ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüsis leiti üks ülegenoomselt statistiliselt oluline seos 10. kromosoomis asuva imputeeritud markeriga rs11186962 (p-väärtus  $3,98 \times 10^{-8}$ ). Nimetatud marker asub kahe geeni, *IDE* ja *MARCH5* vahel. *IDE* kodeeritud valk ekspresseerub nahas ja hepatotsüütides, lagundab intratsellulaarset insuliini ning osaleb rakkudevahelises peptiidsignaalsioonis. *IDE* on aminopeptidaasi aktiivsusega, osaleb antigeenide protsessimisel ja peptiidantigeenide presenteerimisel. Lisaks arvatakse sel olevat roll ubikvitiin-vahendatud tsükliin D ja beta-kateniini lagundamise radades. *MARCH5* on osaline mitokondri morfoloogias ja seda seostatakse ubikvitiin-valk ligaasse aktiivsusega ning K48-vahendatud valkude ubikvitineerimisega.

Veel asub mainitud markeri lähedal *CPEB3*, mis ekspresseerub närvisüsteemi erinevates osades. *CPEB3*-l arvatakse olevat roll Golgisti endosoomi transpordil ja lihaste adaptatsioonil, samuti arvatakse, et see on osaline valkude ubikvitineerimisel ubikvitiin-sõltuvas valkude kataboolses protsessimises. Eelnimetatud kolme geeni pole varem teadaolevalt isiksuse tunnustega seostatud.

Lisaks leiti ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüsis tugev seos ( $p$ -väärtus  $6,36 \times 10^{-7}$ ) kromosoomis 7 oleva markeriga rs73290951, mis asub geeni *CARD11* intronis. Geeni kodeeritud valk ekspresseerub lümfoidsüsteemi rakkudes, T- ja B-lümfotsüütides, ning osaleb nende aktivatsiooniradades, mistõttu seostatakse *CARD11* inaktivatsiooni kombineeritud immuunpuudulikkuse kujunemisel (Greil et al., 2013). Seni teadaolevalt pole nimetatud markerit isiksuse fenotüüpidega seostatud. Lisaks asub rs73290951 lähedal geen *GNAI2*, mis ekspresseerub fibroblastides ja makrofaagides. *GNAI2* on seostatud rinnavähi ja metastaaside tekke regulaatorina. Isiksuse tunnustega pole teadaolevalt antud geeni varem seostatud.

Elamustejanu assotsiatsioonianalüüsi tulemusena leiti samuti 10. kromosoomist marker rs1186965, kuigi mitte ülegenoomselt statistiselt olulise assotsiatsiooniga ( $p$ -väärtus  $< 1,11 \times 10^{-7}$ ), mis asub eelmainitud markerist rs1186962 vähem kui 500 bp kaugusel ning paikneb eelnevalt rs1186962 juures kirjeldatud geenide lähedal.

Kahe uuringu tulemustest lähtuvalt võib järeldada, et kromosoom 10 mainitud lookuses asuvad geenid võivad olla seotud isiksust mõjutavate tunnustega ning vajavad lähemat uurimist.

Juht-kontrollanalüüsis leiti seos markeriga rs78713401 ( $p$ -väärtus  $3,22 \times 10^{-6}$ ), mis asub kromosoomis 4, geenis *C4orf50*, mille funktsiooni pole seni kirjeldatud. Nimetatud markeri läheduses (kaugus  $< 100\text{kb}$ ) asuvad ka geenid *CRMP1* ja *JAKMIP1*. *CRMP1* kodeeritud valk on ekspresseeritud erinevates närvisüsteemi osades ning osaleb radiaalses neuronite migratsioonis ja neuronite diferentseerumises. Samuti arvatakse tal olevat roll insuliini sekretatsiooni inhibitsioonis adrenaliini/noradrenaliini kaudu. *CRMP1* on seostatud skisofreeniaga (Bader et al., 2012)(Bader et al., 2012). *JAKMIP1* (tuntud ka kui *MARLIN-1*) on samuti närvisüsteemis ekspresseeruv ning tal arvatakse olevat funktsioon T-rakkude selektsioonil tsütotoksilisuse reguleerimises ning on seostatud autismiga (Hedges et al., 2012).

Eelmainitu põhjal võib oletada, et leitud markerid võivad mõjutada isiksust mõjutavaid tunnuseid, kuid vajavad samuti lähemat uurimist.

Veel oli käesoleva töö eesmärgiks läbi viia replikatsioonuring 2011. aastal Terracciano jt poolt meta-analüüsis leitud ülegenoomselt statistiselt olulisele järjestusvariandile rs7600563, mis asub teises kromosoomi geenis *CTNNA2* (Terracciano et al, 2011). Selleks kasutati juht-kontrollanalüüsiks ja elamustejanu assotsiatsioonianalüüsiks kasutatud valimeid.

Mõlema analüüsi tulemustest selgus, et nimetatud SNP jäi töös seatud imputatsiooni kvaliteedipiirist madalamale ja isegi siis antud signaal meie replikatsioonuuringus ei replitseerunud. Selle põhjus võib olla tingitud analüüsis kasutatud imputatsiooni suurest ebatäpsusest, mis ilmnis antud SNP suhtes langevarjurite genotüpiseerimiseks kasutatud RFLP-analüüsi ja imputatsiooni tulemuste kõrvutamisel. Samuti võib üheks signaali mittereplitseerumise põhjuseks olla meie valimi väiksus või see, et esialgne uuringu leid võis olla valepositiivne. Kuigi Terracciano jt poolt läbi viidud uuringu valimi suuruseks oli üle 7600 indiviidi, siis võis see olla siiski liialt väike, et uurida nii komplekseid tunnuseid nagu seda on isiksuseomadused. Seda kinnitab Rietveldi jt läbi viidud ülegenoomne assotsiatsiooniuuring haridustaseme uurimiseks ( $N \sim 126\,000$ ), kust leiti vaid kolm statistiliselt olulist järjestusvarianti (Rietveld et al, 2013).

Antud töö analüüside tulemusena leiti üks ülegenoomselt statistiliselt olulise väärtusega kandidaatregioon kromosoomis 10, mis võib omada seost elamustejanu ning ekstravertsusega. Samas tuleks siiski leiu kinnitamiseks läbi viia järeluuringuid, et kinnitada töö tulemusi.

## KOKKUVÕTE

Isiksuse seadumuste hulka kuuluvad elamustejanu on seostatud suitsetamise, alkoholi ja teiste mõnuainete tarvitamise ning eaturvalise seksuaalkäitumisega – kõik see teeb nimetatud tunnuse oluliseks meditsiini vaatepunktist. Seni on erinevate elamustejanu uuringute käigus leitud vähe geneetilisi variante, mis assotsieeruvad elamustejanuga.

Käesoleva töö eesmärk oli uurida, kas hiljuti elamustejanu uuringus leitud *CTNNA2* geenis paikneva järjestusvariandi rs7600563 seos uues sõltumatus valimis replitseerub, ning leida uusi geneetilisi markereid, mis võivad mõjutada elamustejanu avaldumist. Selleks teostati lineaarse regressiooni mudelit kasutades kaks ülegenoomset assotsiatsiooniuringut, kuhu kaasati NEO-PI-3 isiksuseküsimumstiku täitnud harrastuslangevarjurid ja Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu geenidoonorid – kokku 2553 indiviidi. Lisaks teostati logistilise regressiooni mudelit kasutades juht-kontrollanalüüsi uuritava tunnuse suhtes populatsiooni äärmuste strateegiat rakendades, kuhu kuulus 272 langevarjurit ja 294 geenidoonorit. Puuduolevate markerite genotüüpide leidmiseks kasutati kõige värskemat 1000 Genoomi Projekti referentsandmestikku.

Töö tulemusena leiti üks ülegenoomselt statistiliselt olulise assotsiatsiooniga marker rs11186962 geenidevahelises regioonis kümnendas kromosoomis, mille lähedale jäi kolm kandidaatgeeni – *IDE*, *MARCH5* ja *CPEB3*. *IDE* osaleb rakkudevahelises peptiidisignalisatsioonis, *MARCH5* ja *CPEB3* seostatakse rolliga valkude ubikvitineerimisel. Ühtegi eelmainitud kandidaatgeeni pole seni teadaolevalt elamustejanu või teiste isiksuse seadumustega seostatud.

Kirjanduses seni leitud järjestusvariandi rs7600563 assotsiatsiooni elamustejanuga antud töös replitseerida ei õnnestunud.

Töös leitud lookuse assotsiatsiooni kinnitamiseks elamustejanuga tuleks sõltumatus kohordis läbi viia täiendavad uuringud.

## SUMMARY

### The role of genetic variants in *CTNNA2* in the development of excitement-seeking

Timo Tõnis Sikka

#### Summary

Different personality traits influence how people behave in everyday life. Excitement seeking, which is a defining feature of extraversion, is a trait that influences people to seek excitement and sensation. It has been associated with several risk factors regarding one's health, such as smoking, the consumption of alcohol, as well as the abuse of drugs. The forementioned makes it an important trait to study from the perspective of psychology and medicine. Several association studies have been conducted to search for genetic variants that might be associated with excitement-seeking, but only few markers have been found.

The aim of this study was to see if a previously associated variant rs7600563 in *CTNNA2* gene replicates in our study, and to look for new variants that may influence excitement-seeking. Two genome-wide association studies using the linear regression model were conducted using the samples of 2553 individuals from Estonian population who had completed the NEO-PI-3 questionnaire to measure personality traits. In addition, a case-control study using the logistic regression model and population extremes strategy was conducted – 272 cases and 294 controls. In order to find genotypes for missing markers a 1000 Genomes Project reference panel was used.

As a result of this study, one marker rs11186962 of genome-wide significance which is located between genes in chromosome 10 was found. Three candidate genes – *IDE*, *MARCH5* and *CPEB3* – were found near that marker. *IDE* plays a role in intercellular peptide signaling. *MARCH5* and *CPE3* are associated with a role in protein ubiquitination. None of these candidate genes have previously been associated with excitement-seeking or other personality traits.

We did not succeed to replicate the association of rs7600563 with excitement-seeking in this study.

Further studies should be conducted to confirm the association between excitement-seeking and the locus found in this study.

## **TÄNUAVALDUSED**

Soovin tänada kõiki inimesi, kes mind lõputöö kirjutamisel toetasid. Eelkõige tänan oma juhendajaid, Tõnu Eskot ja Evelin Mihailovit, suure abi, õpetuse ja kannatlikkuse eest.

Lisaks tänan kogu biotehnoloogia õppetooli kollektiivi, Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramut, Tartu Ülikooli Psühholoogia Instituudi teadureid hea koostöö eest ning töös uuritud langevarjureid ja geenidoonoreid, kellela poleks olnud seda uuringut võimalik teostada.

Suur tänu mu perekonnale ja sõpradele, kes mind selle töö valmimisel toetasid.

## KIRJANDUSE LOETELU

- Allik, J., Realo, A., & Konstabel, K. (2003). *Isiksusepsühholoogia*. pp 66-106 Tartu Ülikooli Kirjastus.
- Altshuler, D., Daly, M. J., & Lander, E. S. (2008). Genetic Mapping in Human Disease. *Science*, (November), 881–888.
- Bader, V., Tomppo, L., Trossbach, S. V., Bradshaw, N. J., Prikulis, I., Rutger Leliveld, S., Lin, C. Y., Ishizuka, K., Sawa, A., Ramos, A., Rosa, I., García, Á., Requena, J. R., Hipolito, M., Rai, N., Nwulia, E., Henning, U., Ferrea, S., Luckhaus, C., Ekelund, J., Veijola, J., Järvelin, M. R., Hennah, W., & Korth, C. (2012). Proteomic, genomic and translational approaches identify CRMP1 for a role in schizophrenia and its underlying traits. *Human Molecular Genetics*, 21(20), 4406–4418.
- Berndt, S. I., Gustafsson, S., Mägi, R., Ganna, A., Wheeler, E., Feitosa, M. F., Justice, A. E., Monda, K. L., Croteau-Chonka, D. C., Day, F. R., Esko, T., Fall, T., Ferreira, T., Gentilini, D., Jackson, A. U., Luan, J., Randall, J. C., Vedantam, S., Willer, C. J., Winkler, T. W., Wood, A. R., Workalemahu, T., Hu, Y.-J., Lee, S. H., Liang, L., Lin, D.-Y., Min, J. L., Neale, B. M., Thorleifsson, G., Yang, J., Albrecht, E., Amin, N., Bragg-Gresham, J. L., Cadby, G., den Heijer, M., Eklund, N., Fischer, K., Goel, A., Hottenga, J.-J., Huffman, J. E., Jarick, I., Johansson, A., Johnson, T., Kanoni, S., Kleber, M. E., König, I. R., Kristiansson, K., Kutalik, Z., Lamina, C., Lecoeur, C., Li, G., Mangino, M., McArdle, W. L., Medina-Gomez, C., Müller-Nurasyid, M., Ngwa, J. S., Nolte, I. M., Paternoster, L., Pechlivanis, S., Perola, M., Peters, M. J., Preuss, M., Rose, L. M., Shi, J., Shungin, D., Smith, A. V., Strawbridge, R. J., Surakka, I., Teumer, A., Trip, M. D., Tyrer, J., Van Vliet-Ostapchouk, J. V., Vandenput, L., Waite, L. L., Zhao, J. H., Absher, D., Asselbergs, F. W., Atalay, M., Attwood, A. P., Balmforth, A. J., Basart, H., Beilby, J., Bonnycastle, L. L., Brambilla, P., Bruinenberg, M., Campbell, H., Chasman, D. I., Chines, P. S., Collins, F. S., Connell, J. M., Cookson, W. O., de Faire, U., de Vegt, F., Dei, M., Dimitriou, M., Edkins, S., Estrada, K., Evans, D. M., Farrall, M., Ferrario, M. M., Ferrières, J., Franke, L., Frau, F., Gejman, P. V., Grallert, H., Grönberg, H., Gudnason, V., Hall, A. S., Hall, P., Hartikainen, A.-L., Hayward, C., Heard-Costa, N. L., Heath, A. C., Hebebrand, J., Homuth, G., Hu, F. B., Hunt, S. E., Hyppönen, E., Iribarren, C., Jacobs, K. B., Jansson, J.-O., Jula, A., Kähönen, M., Kathiresan, S., Kee, F., Khaw, K.-T., Kivimäki, M., Koenig, W., Kraja, A. T., Kumari, M., Kuulasmaa, K., Kuusisto, J., Laitinen, J. H., Lakka, T. a, Langenberg, C., Launer, L. J., Lind, L., Lindström, J., Liu, J., Liuzzi, A., Lokki, M.-L., Lorentzon, M., Madden, P. a, Magnusson, P. K., Manunta, P., Marek, D., März, W., Leach, I. M., McKnight, B., Medland, S. E., Mihailov, E., Milani, L., Montgomery, G. W., Mooser, V., Mühleisen, T. W., Munroe, P. B., Musk, A. W., Narisu, N., Navis, G., Nicholson, G., Nohr, E. a, Ong, K. K., Oostra, B. a, Palmer, C. N. a, Palotie, A., Peden, J. F., Pedersen, N., Peters, A., Polasek, O., Pouta, A., Pramstaller, P. P., Prokopenko, I., Pütter, C., Radhakrishnan, A., Raitakari, O., Rendon, A., Rivadeneira, F., Rudan, I., Saaristo, T. E., Sambrook, J. G., Sanders, A. R., Sanna, S., Saramies, J., Schipf, S., Schreiber, S., Schunkert, H., Shin, S.-Y., Signorini, S., Sinisalo, J., Skrobek,

B., Soranzo, N., Stančáková, A., Stark, K., Stephens, J. C., Stirrups, K., Stolk, R. P., Stumvoll, M., Swift, A. J., Theodoraki, E. V., Thorand, B., Tregouet, D.-A., Tremoli, E., Van der Klauw, M. M., van Meurs, J. B. J., Vermeulen, S. H., Viikari, J., Virtamo, J., Vitart, V., Waeber, G., Wang, Z., Widén, E., Wild, S. H., Willemsen, G., Winkelmann, B. R., Witteman, J. C. M., Wolffenbuttel, B. H. R., Wong, A., Wright, A. F., Zillikens, M. C., Amouyel, P., Boehm, B. O., Boerwinkle, E., Boomsma, D. I., Caulfield, M. J., Chanock, S. J., Cupples, L. A., Cusi, D., Dedoussis, G. V., Erdmann, J., Eriksson, J. G., Franks, P. W., Froguel, P., Gieger, C., Gyllensten, U., Hamsten, A., Harris, T. B., Hengstenberg, C., Hicks, A. a, Hingorani, A., Hinney, A., Hofman, A., Hovingh, K. G., Hveem, K., Illig, T., Jarvelin, M.-R., Jöckel, K.-H., Keinanen-Kiukaanniemi, S. M., Kiemeny, L. a, Kuh, D., Laakso, M., Lehtimäki, T., Levinson, D. F., Martin, N. G., Metspalu, A., Morris, A. D., Nieminen, M. S., Njølstad, I., Ohlsson, C., Oldehinkel, A. J., Ouwehand, W. H., Palmer, L. J., Penninx, B., Power, C., Province, M. a, Psaty, B. M., Qi, L., Rauramaa, R., Ridker, P. M., Ripatti, S., Salomaa, V., Samani, N. J., Snieder, H., Sørensen, T. I. a, Spector, T. D., Stefansson, K., Tönjes, A., Tuomilehto, J., Uitterlinden, A. G., Uusitupa, M., van der Harst, P., Vollenweider, P., Wallaschofski, H., Wareham, N. J., Watkins, H., Wichmann, H.-E., Wilson, J. F., Abecasis, G. R., Assimes, T. L., Barroso, I., Boehnke, M., Borecki, I. B., Deloukas, P., Fox, C. S., Frayling, T., Groop, L. C., Haritunian, T., Heid, I. M., Hunter, D., Kaplan, R. C., Karpe, F., Moffatt, M. F., Mohlke, K. L., O'Connell, J. R., Pawitan, Y., Schadt, E. E., Schlessinger, D., Steinthorsdottir, V., Strachan, D. P., Thorsteinsdottir, U., van Duijn, C. M., Visscher, P. M., Di Blasio, A. M., Hirschhorn, J. N., Lindgren, C. M., Morris, A. P., Meyre, D., Scherag, A., McCarthy, M. I., Speliotes, E. K., North, K. E., Loos, R. J. F., & Ingelsson, E. (2013). Genome-wide meta-analysis identifies 11 new loci for anthropometric traits and provides insights into genetic architecture. *Nature Genetics*, *45*(5).

Bevilacqua, L., Doly, S., Kaprio, J., Yuan, Q., Tikkanen, R., Paunio, T., Zhou, Z., Wedenoja, J., Maroteaux, L., Diaz, S., Belmer, A., Hodgkinson, C. a, Dell'osso, L., Suvisaari, J., Coccaro, E., Rose, R. J., Peltonen, L., Virkkunen, M., & Goldman, D. (2010). A population-specific HTR2B stop codon predisposes to severe impulsivity. *Nature*, *468*(7327), 1061–6.

Bland, J. M., & Altman, D. G. (2000). Statistics Notes 42: The odds ratio. *British Medical Journal*, *320*(7247), 1468.

Bogg, T., & Roberts, B. W. (2004). Conscientiousness and health-related behaviors: a meta-analysis of the leading behavioral contributors to mortality. *Psychological Bulletin*, *130*(6), 887–919.

Burton, P. R., Hansell, A. L., Fortier, I., Manolio, T. a, Khoury, M. J., Little, J., & Elliott, P. (2009). Size matters: just how big is BIG?: Quantifying realistic sample size requirements for human genome epidemiology. *International Journal of Epidemiology*, *38*(1), 263–73.

Cardon, L. R., & Bell, J. I. (2001). Association study designs for complex diseases. *Nature Reviews. Genetics*, *2*(2), 91–9.

- Chu, T. T., & Liu, Y. (2010). An integrated genomic analysis of gene-function correlation on schizophrenia susceptibility genes. *Journal of Human Genetics*, *55*(5), 285–92.
- Costa, P. T. J., & McCrae, R. R. (1992). Revised NEO Personality Inventory (NEO P-I-R) and NEO Five-Factor Inventory (NEO-FFI) Professional Manual. Odessa, FL: Psychological assessment Resources.
- Costa, P. T. J., Terracciano, A., & McCrae, R. R. (2001). Gender differences in personality traits across cultures: Robust and surprising findings. *Journal of Personality and Social Psychology*, *81*(2), 322–331.
- De Fruyt, F., De Bolle, M., McCrae, R. R., Terracciano, A., & Costa, P. T. (2009). Assessing the universal structure of personality in early adolescence: The NEO-PI-R and NEO-PI-3 in 24 cultures. *Assessment*, *16*(3), 301–11.
- De Moor, M. H. M., Costa, P. T., Terracciano, a, Krueger, R. F., de Geus, E. J. C., Toshiko, T., Penninx, B. W. J. H., Esko, T., Madden, P. a F., Derringer, J., Amin, N., Willemsen, G., Hottenga, J.-J., Distel, M. a, Uda, M., Sanna, S., Spinhoven, P., Hartman, C. a, Sullivan, P., Realo, a, Allik, J., Heath, a C., Pergadia, M. L., Agrawal, a, Lin, P., Grucza, R., Natile, T., Ciullo, M., Rujescu, D., Giegling, I., Konte, B., Widen, E., Cousminer, D. L., Eriksson, J. G., Palotie, a, Peltonen, L., Luciano, M., Tenesa, a, Davies, G., Lopez, L. M., Hansell, N. K., Medland, S. E., Ferrucci, L., Schlessinger, D., Montgomery, G. W., Wright, M. J., Aulchenko, Y. S., Janssens, a C. J. W., Oostra, B. a, Metspalu, a, Abecasis, G. R., Deary, I. J., Rääkkönen, K., Bierut, L. J., Martin, N. G., van Duijn, C. M., & Boomsma, D. I. (2012). Meta-analysis of genome-wide association studies for personality. *Molecular Psychiatry*, *17*(3), 337–49.
- Delaneau, O., Zagury, J.-F., & Marchini, J. (2013). Improved whole-chromosome phasing for disease and population genetic studies. *Nature Methods*, *10*(1), 5–6.
- Fanjul-Fernández, M., Quesada, V., Cabanillas, R., Cadiñanos, J., Fontanil, T., Obaya, A., Ramsay, A. J., Llorente, J. L., Astudillo, A., Cal, S., & López-Otín, C. (2013). Cell-cell adhesion genes CTNNA2 and CTNNA3 are tumour suppressors frequently mutated in laryngeal carcinomas. *Nature Communications*, *4*(May), 2531.
- Frazer, K. a, Ballinger, D. G., Cox, D. R., Hinds, D. a, Stuve, L. L., Gibbs, R. a, Belmont, J. W., Boudreau, A., Hardenbol, P., Leal, S. M., Pasternak, S., Wheeler, D. a, Willis, T. D., Yu, F., Yang, H., Zeng, C., Gao, Y., Hu, H., Hu, W., Li, C., Lin, W., Liu, S., Pan, H., Tang, X., Wang, J., Wang, W., Yu, J., Zhang, B., Zhang, Q., Zhao, H., Zhao, H., Zhou, J., Gabriel, S. B., Barry, R., Blumenstiel, B., Camargo, A., Defelice, M., Faggart, M., Goyette, M., Gupta, S., Moore, J., Nguyen, H., Onofrio, R. C., Parkin, M., Roy, J., Stahl, E., Winchester, E., Ziaugra, L., Altshuler, D., Shen, Y., Yao, Z., Huang, W., Chu, X., He, Y., Jin, L., Liu, Y., Shen, Y., Sun, W., Wang, H., Wang, Y., Wang, Y., Xiong, X., Xu, L., Wayne, M. M. Y., Tsui, S. K. W., Xue, H., Wong, J. T.-F., Galver, L. M., Fan, J.-B., Gunderson, K., Murray, S. S., Oliphant, A. R., Chee, M. S., Montpetit, A., Chagnon, F., Ferretti, V., Leboeuf, M., Olivier, J.-F., Phillips, M. S., Roumy, S., Sallée, C., Verner, A., Hudson, T. J., Kwok, P.-Y., Cai, D., Koboldt, D. C., Miller, R. D., Pawlikowska, L.,

Taillon-Miller, P., Xiao, M., Tsui, L.-C., Mak, W., Song, Y. Q., Tam, P. K. H., Nakamura, Y., Kawaguchi, T., Kitamoto, T., Morizono, T., Nagashima, A., Ohnishi, Y., Sekine, A., Tanaka, T., Tsunoda, T., Deloukas, P., Bird, C. P., Delgado, M., Dermitzakis, E. T., Gwilliam, R., Hunt, S., Morrison, J., Powell, D., Stranger, B. E., Whittaker, P., Bentley, D. R., Daly, M. J., de Bakker, P. I. W., Barrett, J., Chretien, Y. R., Maller, J., McCarroll, S., Patterson, N., Pe'er, I., Price, A., Purcell, S., Richter, D. J., Sabeti, P., Saxena, R., Schaffner, S. F., Sham, P. C., Varilly, P., Stein, L. D., Krishnan, L., Smith, A. V., Tello-Ruiz, M. K., Thorisson, G. a, Chakravarti, A., Chen, P. E., Cutler, D. J., Kashuk, C. S., Lin, S., Abecasis, G. R., Guan, W., Li, Y., Munro, H. M., Qin, Z. S., Thomas, D. J., McVean, G., Auton, A., Bottolo, L., Cardin, N., Eyheramendy, S., Freeman, C., Marchini, J., Myers, S., Spencer, C., Stephens, M., Donnelly, P., Cardon, L. R., Clarke, G., Evans, D. M., Morris, A. P., Weir, B. S., Mullikin, J. C., Sherry, S. T., Feolo, M., Skol, A., Zhang, H., Matsuda, I., Fukushima, Y., Macer, D. R., Suda, E., Rotimi, C. N., Adebamowo, C. a, Ajayi, I., Aniagwu, T., Marshall, P. a, Nkwodimmah, C., Royal, C. D. M., Leppert, M. F., Dixon, M., Peiffer, A., Qiu, R., Kent, A., Kato, K., Niikawa, N., Adewole, I. F., Knoppers, B. M., Foster, M. W., Clayton, E. W., Watkin, J., Muzny, D., Nazareth, L., Sodergren, E., Weinstock, G. M., Yakub, I., Birren, B. W., Wilson, R. K., Fulton, L. L., Rogers, J., Burton, J., Carter, N. P., Clee, C. M., Griffiths, M., Jones, M. C., McLay, K., Plumb, R. W., Ross, M. T., Sims, S. K., Willey, D. L., Chen, Z., Han, H., Kang, L., Godbout, M., Wallenburg, J. C., L'Archevêque, P., Bellemare, G., Saeki, K., Wang, H., An, D., Fu, H., Li, Q., Wang, Z., Wang, R., Holden, A. L., Brooks, L. D., McEwen, J. E., Guyer, M. S., Wang, V. O., Peterson, J. L., Shi, M., Spiegel, J., Sung, L. M., Zacharia, L. F., Collins, F. S., Kennedy, K., Jamieson, R., & Stewart, J. (2007). A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*, *449*(7164), 851–61.

Gabriel, S. B., Schaffner, S. F., Nguyen, H., Moore, J. M., Roy, J., Blumenstiel, B., Higgins, J., DeFelice, M., Lochner, A., Faggart, M., Liu-Cordero, S. N., Rotimi, C., Adeyemo, A., Cooper, R., Ward, R., Lander, E. S., Daly, M. J., & Altshuler, D. (2002). The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science (New York, N.Y.)*, *296*(5576), 2225–9.

Gibby, R. E., & Zickar, M. J. (2008). A history of the early days of personality testing in American industry: An obsession with adjustment. *History of Psychology*, *11*(3), 164–184.

Goodwin, R. D., & Friedman, H. S. (2006). Health status and the five-factor personality traits in a nationally representative sample. *Journal of Health Psychology*, *11*(5), 643–654.

Greil, J., Rausch, T., Giese, T., Bandapalli, O. R., Daniel, V., Bekeredjian-Ding, I., Stütz, A. M., Drees, C., Roth, S., Ruland, J., Korb, J. O., & Kulozik, A. E. (2013). Whole-exome sequencing links caspase recruitment domain 11 (CARD11) inactivation to severe combined immunodeficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *131*(5).

Hedges, D. J., Hamilton-Nelson, K. L., Sacharow, S. J., Nations, L., Beecham, G. W., Kozhekbaeva, Z. M., Butler, B. L., Cukier, H. N., Whitehead, P. L., Ma, D., Jaworski, J. M., Nathanson, L., Lee, J. M., Hauser, S. L., Oksenberg, J. R., Cuccaro, M. L., Haines, J.

- L., Gilbert, J. R., & Pericak-Vance, M. a. (2012). Evidence of novel fine-scale structural variation at autism spectrum disorder candidate loci. *Molecular Autism*, 3(1), 2.
- Howie, B. N., Donnelly, P., & Marchini, J. (2009). A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies. *PLoS Genetics*, 5(6), e1000529.
- Jang, K. L., McCrae, R. R., Angleitner, a, Riemann, R., & Livesley, W. J. (1998). Heritability of facet-level traits in a cross-cultural twin sample: support for a hierarchical model of personality. *Journal of Personality and Social Psychology*, 74(6), 1556–65.
- Kallasmaa, T., Allik, J., Realo, A., & McCrae, R. R. (2000). The Estonian Version of the NEO-PI-R : An Examination of Universal and Culture-Specific Aspects of the Five-Factor Model. *European Journal of Personality*, 278(April 1999).
- Kask, M., Pruunsild, P., & Timmusk, T. (2011). Bidirectional transcription from human LRRTM2/CTNNA1 and LRRTM1/CTNNA2 gene loci leads to expression of N-terminally truncated CTNNA1 and CTNNA2 isoforms. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 411(1), 56–61. R
- Kruglyak, L. (1999). Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nature Genetics*, 22(2), 139–44.
- Lesch, K.-P., Timmesfeld, N., Renner, T. J., Halperin, R., Röser, C., Nguyen, T. T., Craig, D. W., Romanos, J., Heine, M., Meyer, J., Freitag, C., Warnke, A., Romanos, M., Schäfer, H., Walitza, S., Reif, A., Stephan, D. a, & Jacob, C. (2008). Molecular genetics of adult ADHD: converging evidence from genome-wide association and extended pedigree linkage studies. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, 115(11), 1573–85.
- Malouff, J. M., Thorsteinsson, E. B., Rooke, S. E., & Schutte, N. S. (2007). Alcohol involvement and the Five-Factor model of personality: a meta-analysis. *Journal of Drug Education*, 37(3), 277–294.
- Manolio, T. a, Collins, F. S., Cox, N. J., Goldstein, D. B., Hindorff, L. a, Hunter, D. J., McCarthy, M. I., Ramos, E. M., Cardon, L. R., Chakravarti, A., Cho, J. H., Guttmacher, A. E., Kong, A., Kruglyak, L., Mardis, E., Rotimi, C. N., Slatkin, M., Valle, D., Whittemore, A. S., Boehnke, M., Clark, A. G., Eichler, E. E., Gibson, G., Haines, J. L., Mackay, T. F. C., McCarroll, S. a, & Visscher, P. M. (2009). Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*, 461(7265), 747–53.
- Marchini, J., Cardon, L. R., Phillips, M. S., & Donnelly, P. (2004). The effects of human population structure on large genetic association studies. *Nature Genetics*, 36(5), 512–7.
- Marchini, J., & Howie, B. (2010). Genotype imputation for genome-wide association studies. *Nature Reviews. Genetics*, 11(7), 499–511.
- McCrae, R. R., Costa Jr, P. T., & Martin, T. A. (2005). The NEO-PI-3: a more readable revised NEO Personality Inventory. *Journal of Personality Assessment*, 84(3), 261–70.

- McCrae, R. R., & Costa, P. T. J. (1996). Towards a new generation of personality theories: Theoretical context for the Five-Factor Theory. In J. S. Wiggins (Ed.), *The Five-Factor Model of personality: Theoretical perspective* (pp. 51–87). New York: Guilford.
- McCrae, R. R., Kurtz, J. E., Yamagata, S., & Terracciano, A. (2011). Internal consistency, retest reliability, and their implications for personality scale validity. *Personality and Social Psychology Review: An Official Journal of the Society for Personality and Social Psychology, Inc*, 15(1), 28–50.
- McCrae, R. R., & Terracciano, A. (2005). Universal features of personality traits from the observer's perspective: data from 50 cultures. *Journal of Personality and Social Psychology*, 88(3), 547–61.
- Mõttus, R., Realo, A., Allik, J., Deary, I. J., Esko, T., & Metspalu, A. (2012). Personality traits and eating habits in a large sample of Estonians. *Health Psychology: Official Journal of the Division of Health Psychology, American Psychological Association*, 31(6), 806–14.
- Mõttus, R., Realo, A., Allik, J., Esko, T., & Metspalu, A. (2012). History of the diagnosis of a sexually transmitted disease is linked to normal variation in personality traits. *The Journal of Sexual Medicine*, 9(11), 2861–7.
- Ng, S. B., Buckingham, K. J., Lee, C., Bigham, A. W., Tabor, H. K., Dent, K. M., Huff, C. D., Shannon, P. T., Jabs, E. W., Nickerson, D. a, Shendure, J., & Bamshad, M. J. (2010). Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nature Genetics*, 42(1), 30–35.
- Park, C., Falls, W., Finger, J. H., Longo-Guess, C. M., & Ackerman, S. L. (2002). Deletion in *Catna2*, encoding alpha N-catenin, causes cerebellar and hippocampal lamination defects and impaired startle modulation. *Nature Genetics*, 31(3), 279–84.
- Patterson, N., Price, A. L., & Reich, D. (2006). Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genetics*, 2(12), e190.
- Price, A. L., Zaitlen, N. a, Reich, D., & Patterson, N. (2010). New approaches to population stratification in genome-wide association studies. *Nature Reviews. Genetics*, 11(7), 459–63.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. a R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559–575.
- Reich, D. E., & Lander, E. S. (2001). On the allelic spectrum of human disease. *Trends in Genetics: TIG*, 17(9), 502–10.
- Rhodes, R. E., & Smith, N. E. I. (2006). Personality correlates of physical activity: a review and meta-analysis. *British Journal of Sports Medicine*, 40(12), 958–965.

- Riemann, R., Angleitner, A., & Strelau, J. (1997). Genetic and Environmental Influences on Personality: A Study of Twins Reared Together Using the Self- and Peer Report NEO-FFI Scales. *Journal of Personality*, *65*, 449–475.
- Rietveld, C. A., Medland, S. E., Derringer, J., Yang, J., Esko, T., Martin, N. W., Westra, H., Shakhbazov, K., & Abdellaoui, A. (2013). GWAS of 126,559 Individuals Identifies Genetic Variants Associated with Educational Attainment. *Science*, *340*(6139), 1467–1471.
- Risch, N., & Merikangas, K. (1996). The future of genetic studies of complex human diseases. *Science (New York, N.Y.)*, *273*(5281), 1516–7.
- Scott, L. J., Muglia, P., Kong, X. Q., Guan, W., Flickinger, M., Upmanyu, R., Tozzi, F., Li, J. Z., Burmeister, M., Absher, D., Thompson, R. C., Francks, C., Meng, F., Antoniadis, A., Southwick, A. M., Schatzberg, A. F., Bunney, W. E., Barchas, J. D., Jones, E. G., Day, R., Matthews, K., McGuffin, P., Strauss, J. S., Kennedy, J. L., Middleton, L., Roses, A. D., Watson, S. J., Vincent, J. B., Myers, R. M., Farmer, A. E., Akil, H., Burns, D. K., & Boehnke, M. (2009). Genome-wide association and meta-analysis of bipolar disorder in individuals of European ancestry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(18), 7501–6.
- Spencer, C. C. a, Su, Z., Donnelly, P., & Marchini, J. (2009). Designing genome-wide association studies: sample size, power, imputation, and the choice of genotyping chip. *PLoS Genetics*, *5*(5), e1000477.
- Stoel, R. D., De Geus, E. J. C., & Boomsma, D. I. (2006). Genetic analysis of sensation seeking with an extended twin design. *Behavior Genetics*, *36*(2), 229–37.
- Terracciano, A., & Costa, P. T. (2004). Smoking and the Five-Factor Model of personality. *Addiction (Abingdon, England)*, *99*(4), 472–481.
- Terracciano, A., Esko, T., Sutin, A. R., de Moor, M. H. M., Meirelles, O., Zhu, G., Tanaka, T., Giegling, I., Nutile, T., Realo, A., Allik, J., Hansell, N. K., Wright, M. J., Montgomery, G. W., Willemsen, G., Hottenga, J.-J., Friedl, M., Ruggiero, D., Sorice, R., Sanna, S., Cannas, A., R  ikk  nen, K., Widen, E., Palotie, A., Eriksson, J. G., Cucca, F., Krueger, R. F., Lahti, J., Luciano, M., Smoller, J. W., van Duijn, C. M., Abecasis, G. R., Boomsma, D. I., Ciullo, M., Costa, P. T., Ferrucci, L., Martin, N. G., Metspalu, A., Rujescu, D., Schlessinger, D., & Uda, M. (2011). Meta-analysis of genome-wide association studies identifies common variants in CTNNA2 associated with excitement-seeking. *Translational Psychiatry*, *1*(10), e49.
- Terracciano, A., L  ckenhoff, C. E., Crum, R. M., Bienvenu, O. J., & Costa, P. T. (2008). Five-Factor Model personality profiles of drug users. *BMC Psychiatry*, *8*, 22.
- Terracciano, A., McCrae, R. R., Brant, L. J., & Costa, P. T. (2005). Hierarchical linear modeling analyses of the NEO-PI-R scales in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Psychology and Aging*, *20*(3), 493–506.

- The 1000 Genomes Project Consortium. (2010). A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*, 467(7319), 1061–73.
- The 1000 Genomes Project Consortium. (2012). An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*, 491(7422), 56–65.
- Wang, W. Y. S., Barratt, B. J., Clayton, D. G., & Todd, J. a. (2005). Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nature Reviews. Genetics*, 6(2), 109–18.
- Weiss, K. M., Weiss, K. M., Clark, A. G., & Clark, A. G. (2002). Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. *Trends in Genetics : TIG*, 18(1), 19–24.
- Wellcome Trust Case Control Consortium. (2007). Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*, 447(7145), 661–78.
- Welter, D., MacArthur, J., Morales, J., Burdett, T., Hall, P., Junkins, H., Klemm, A., Flicek, P., Manolio, T., Hindorff, L., & Parkinson, H. (2014). The NHGRI GWAS Catalog, a curated resource of SNP-trait associations. *Nucleic Acids Research*, 42(Database issue), D1001–6.
- Zondervan, K. T., & Cardon, L. R. (2007). Designing candidate gene and genome-wide case-control association studies. *Nature Protoc*, 2, 2492–2501.
- Zuckerman, M., & Kuhlman, D. M. (2000). Personality and risk-taking: common biosocial factors. *Journal of Personality*, 68(6), 999–1029.

## **KASUTATUD VEEBIAADDRESSID**

<http://www.ensembl.org/index.html>

<http://genenetwork.nl:8080/GeneNetwork/mgi.html>

[https://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/impute\\_v2.html](https://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/impute_v2.html)

[https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics\\_software/shapeit/shapeit.html](https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics_software/shapeit/shapeit.html)

[https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics\\_software/snptest/snptest.html](https://mathgen.stats.ox.ac.uk/genetics_software/snptest/snptest.html)

<http://ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>

## LISAD

### *Lisa 1. DNA ümbersadestamise protokoll.*

Materjalid :

- 96-100% etanool (-20 °C)
- 70% etanool
- 10M ammooniumatsetaat

Puhastamine viidi läbi 1,5 ml tuubides.

1. Mõõdeti sadestatava proovi ruumala.
2. Lisati proovile 40% ruumalast 10M ammooniumatsetaati, suspendeeriti pipetiga.
3. Lisati proovile 2-3 ruumala külma 96-100% etanooli, segati rahulikult.
4. Jälgiti DNA sademe moodustumist lahuses. Väiksema DNA koguse puhul võis sade olla peen ja nähtamatu.
5. Pandi tuub lahusega 1 tunniks -20 °C juurde.
6. Tsentrifugeeriti proove 15 000 g juures 4 °C temperatuuril 10 minutit. Jälgida tuli proovi asetust, et sadeneva DNA asukoht oleks teada.
7. Eemaldati ettevaatlikult ja sadestunud DNA-d segamata supernatant.
8. Lisati tuubi jäänud DNA sademele 200 µl toatemperatuuril 70% etanooli.
9. Inkubeeriti toatemperatuuril 1 minut.
10. Eemaldati etanool täielikult, ilma sadet segamata, ja lasti mõne minuti jooksul lahtisest tuubist etanooli jääkidel aurustuda.
11. Lisati DNA sademele 50 µl TE puhvrit. Segati *vortexil* vähemalt 5 sekundit.
12. Asetati proov üleöö loksutile ning seejärel segati *vortexil*.
13. Mõõdeti lahustunud proovi kvaliteet ja kontsentratsioon NanoDropiga.

## Lisa 2.

Ekstravertsuse assotsiatsioonianalüüs tulemused. Tabelis on ära toodud kõik markerid, mille p-väärtus oli alla  $1 \times 10^{-6}$ . CI märgib beta 95% usaldusintervalli (*Confidence Interval, CI*).

Lühendid: CHR – *chromosome*, kromosoom; POS – positsioon; EAF – effect allele frequency, efektalleeli sagedus; EA – *effect allele*, efektalleel; NEA – *non effect allele*, teine alleel; PVAL – *p-value*, p-väärtus.

SNP	CHR	POS	EA	NEA	EAF	BETA	SE	PVAL	CI95
rs11186962:94142870:C:G	10	94142870	G	C	0,5500	3,9162	0,7131	3,98E-08	2,52/5,31
rs7911784:94139488:C:T	10	94139488	T	C	0,4644	3,8467	0,7156	7,64E-08	2,44/5,25
rs11186957:94139014:A:C	10	94139014	C	A	0,4627	3,8315	0,7147	8,26E-08	2,43/5,23
rs11186960:94142607:C:A	10	94142607	A	C	0,4637	3,8024	0,7136	9,90E-08	2,4/5,2
rs11186959:94140831:G:A	10	94140831	A	G	0,4634	3,8049	0,7143	1,00E-07	2,4/5,2
rs11186958:94139274:A:G	10	94139274	G	A	0,4632	3,8055	0,7148	1,01E-07	2,4/5,21
rs7912223:94139842:C:G	10	94139842	G	C	0,4634	3,8018	0,7148	1,04E-07	2,4/5,2
rs11186956:94138839:G:A	10	94138839	A	G	0,4278	3,6890	0,7180	2,78E-07	2,28/5,1
rs7914436:94040444:C:A	10	94040444	A	C	0,5152	3,5612	0,6963	3,15E-07	2,2/4,93
rs10748580:94105923:T:C	10	94105923	C	T	0,5166	3,5794	0,7014	3,34E-07	2,2/4,95
rs4999831:94091864:A:G	10	94091864	G	A	0,5165	3,5784	0,7012	3,34E-07	2,2/4,95
rs34981669:94114354:G:GT	10	94114354	GT	G	0,5166	3,5794	0,7016	3,36E-07	2,2/4,95
rs9943333:94096701:A:G	10	94096701	G	A	0,5165	3,5758	0,7012	3,40E-07	2,2/4,95
rs950732:94114633:C:T	10	94114633	T	C	0,5166	3,5773	0,7016	3,41E-07	2,2/4,95
rs144584596:94098799:C:CT	10	94098799	CT	C	0,5165	3,5754	0,7013	3,42E-07	2,2/4,95
rs35339022:94098801:C:A	10	94098801	A	C	0,5165	3,5754	0,7013	3,42E-07	2,2/4,95
10:94059919:C:CA	10	94059919	CA	C	0,4253	3,6520	0,7167	3,48E-07	2,25/5,06
rs7071233:94124103:A:C	10	94124103	C	A	0,5166	3,5749	0,7023	3,57E-07	2,2/4,95
rs2488793:94092719:C:T	10	94092719	T	C	0,4837	-3,5700	0,7014	3,59E-07	-4,94/-2,2
rs11186953:94134407:C:A	10	94134407	A	C	0,4326	3,6379	0,7151	3,64E-07	2,24/5,04
rs12357015:94134525:A:G	10	94134525	G	A	0,4327	3,6362	0,7150	3,67E-07	2,23/5,04
rs11511268:94124587:G:A	10	94124587	A	G	0,4293	3,6205	0,7120	3,67E-07	2,23/5,02
rs11186949:94132842:C:T	10	94132842	T	C	0,4318	3,6349	0,7148	3,68E-07	2,23/5,04
rs913649:94091067:A:G	10	94091067	G	A	0,4834	-3,5651	0,7011	3,68E-07	-4,94/-2,19
rs11186950:94133040:A:G	10	94133040	G	A	0,4320	3,6341	0,7148	3,69E-07	2,23/5,04
rs9419734:94122312:A:T	10	94122312	T	A	0,4827	-3,5737	0,7031	3,72E-07	-4,95/-2,2
rs2265198:94126469:C:T	10	94126469	T	C	0,4829	-3,5698	0,7023	3,72E-07	-4,95/-2,19
rs2265197:94123499:G:A	10	94123499	A	G	0,4829	-3,5696	0,7023	3,72E-07	-4,95/-2,19
rs7903767:94138239:A:G	10	94138239	G	A	0,4346	3,6308	0,7144	3,73E-07	2,23/5,03
rs11186954:94134467:T:C	10	94134467	C	T	0,5202	3,5889	0,7063	3,75E-07	2,2/4,97
rs7070822:94130833:G:A	10	94130833	A	G	0,4309	3,6267	0,7139	3,78E-07	2,23/5,03
rs10882052:94138273:C:T	10	94138273	T	C	0,4346	3,6282	0,7143	3,79E-07	2,23/5,03
rs2257635:94145023:G:A	10	94145023	A	G	0,3893	-3,6661	0,7221	3,83E-07	-5,08/-2,25
rs9665554:94129317:C:T	10	94129317	T	C	0,4301	3,6164	0,7129	3,92E-07	2,22/5,01
rs2027555:94145986:T:A	10	94145986	A	T	0,3892	-3,6630	0,7223	3,95E-07	-5,08/-2,25
rs2488799:94133789:G:A	10	94133789	A	G	0,4800	-3,5805	0,7061	3,96E-07	-4,96/-2,2
rs2259471:94147023:C:T	10	94147023	T	C	0,3891	-3,6621	0,7222	3,96E-07	-5,08/-2,25
rs11186945:94128660:T:A	10	94128660	A	T	0,4298	3,6111	0,7124	3,99E-07	2,21/5,01
rs11186944:94128586:C:T	10	94128586	T	C	0,4298	3,6105	0,7123	4,00E-07	2,21/5,01
rs61875243:94110118:A:G	10	94110118	G	A	0,4293	3,6032	0,7109	4,01E-07	2,21/5
rs11186942:94128166:A:C	10	94128166	C	A	0,4296	3,6067	0,7119	4,06E-07	2,21/5
rs11186941:94128005:T:G	10	94128005	G	T	0,4295	3,6053	0,7118	4,08E-07	2,21/5
rs11186940:94126651:T:C	10	94126651	C	T	0,4295	3,6052	0,7117	4,08E-07	2,21/5
rs6583811:94119943:C:T	10	94119943	T	C	0,4295	3,6049	0,7117	4,08E-07	2,21/5
rs77948062:94122306:A:T	10	94122306	T	A	0,4295	3,6050	0,7117	4,08E-07	2,21/5
rs72809114:94121534:T:G	10	94121534	G	T	0,4295	3,6049	0,7117	4,08E-07	2,21/5
rs7070786:94123687:C:T	10	94123687	T	C	0,4295	3,6050	0,7117	4,08E-07	2,21/5
rs7078190:94120376:G:T	10	94120376	T	G	0,4295	3,6048	0,7117	4,08E-07	2,21/5
rs72809117:94121562:T:G	10	94121562	G	T	0,4295	3,6048	0,7117	4,08E-07	2,21/5

rs7090556:94128186:A:G	10	94128186	G	A	0,4296	3,6052	0,7118	4,09E-07	2,21/5
rs10882050:94117786:C:T	10	94117786	T	C	0,4294	3,6032	0,7115	4,11E-07	2,21/5
rs35801442:94117421:C:CT	10	94117421	CT	C	0,4293	3,6026	0,7115	4,11E-07	2,21/5
rs7080630:94125874:C:T	10	94125874	T	C	0,4295	3,6035	0,7117	4,11E-07	2,21/5
rs73320238:94125441:A:G	10	94125441	G	A	0,4295	3,6035	0,7117	4,11E-07	2,21/5
rs7090404:94128012:C:T	10	94128012	T	C	0,4295	3,6035	0,7117	4,12E-07	2,21/5
rs10882049:94117046:G:A	10	94117046	A	G	0,4293	3,6021	0,7114	4,12E-07	2,21/5
rs7080813:94116891:T:C	10	94116891	C	T	0,4293	3,6019	0,7114	4,12E-07	2,21/5
rs10585069:94151253:GAA:G	10	94151253	G	GAA	0,3903	-3,6579	0,7227	4,17E-07	-5,07/-2,24
rs1057848:94112156:G:C	10	94112156	C	G	0,4291	3,5971	0,7109	4,20E-07	2,2/4,99
rs11186931:94103409:C:G	10	94103409	G	C	0,4290	3,5955	0,7108	4,22E-07	2,2/4,99
rs12358967:94097132:G:A	10	94097132	A	G	0,4290	3,5948	0,7107	4,23E-07	2,2/4,99
rs61875241:94096803:C:T	10	94096803	T	C	0,4290	3,5948	0,7107	4,23E-07	2,2/4,99
rs10509644:94094762:G:A	10	94094762	A	G	0,4290	3,5946	0,7107	4,24E-07	2,2/4,99
rs61875240:94092300:G:A	10	94092300	A	G	0,4290	3,5943	0,7106	4,24E-07	2,2/4,99
rs2259376:94148665:G:C	10	94148665	C	G	0,3893	-3,6531	0,7223	4,25E-07	-5,07/-2,24
rs77133668:94079977:AT:A	10	94079977	A	AT	0,5171	3,5417	0,7008	4,32E-07	2,17/4,92
rs11186926:94098321:C:G	10	94098321	C	G	0,4293	3,5925	0,7109	4,34E-07	2,2/4,99
rs6583812:94128379:A:G	10	94128379	G	A	0,4298	3,5971	0,7121	4,39E-07	2,2/4,99
10:94130479:G:GA	10	94130479	GA	G	0,3972	3,8138	0,7553	4,44E-07	2,33/5,29
rs145183388:94079418:GT:G	10	94079418	G	GT	0,5169	3,5313	0,6999	4,53E-07	2,16/4,9
rs10748577:94068365:G:C	10	94068365	C	G	0,5162	3,5168	0,6975	4,61E-07	2,15/4,88
rs10748578:94076448:T:G	10	94076448	G	T	0,5166	3,5244	0,6991	4,62E-07	2,15/4,89
rs2259049	10	94155499	T	C	0,3903	-3,6375	0,7216	4,63E-07	-5,05/-2,22
rs7094433:94074354:A:G	10	94074354	G	A	0,5165	3,5209	0,6985	4,64E-07	2,15/4,89
rs11186915:94062914:C:T	10	94062914	T	C	0,5161	3,5131	0,6973	4,71E-07	2,15/4,88
rs4933720:94061431:G:A	10	94061431	A	G	0,5161	3,5125	0,6973	4,71E-07	2,15/4,88
rs10786037:94109870:A:G	10	94109870	G	A	0,5178	3,5355	0,7021	4,76E-07	2,16/4,91
rs2480305:94152075:G:C	10	94152075	C	G	0,3904	-3,6363	0,7223	4,80E-07	-5,05/-2,22
rs2771260:94150536:G:A	10	94150536	A	G	0,3898	-3,6382	0,7228	4,81E-07	-5,05/-2,22
rs10748579:94090498:A:G	10	94090498	G	A	0,5172	3,5271	0,7010	4,87E-07	2,15/4,9
rs59053118:94113503:A:AATTCT	10	94113503	AATTCT	A	0,5178	3,5315	0,7020	4,89E-07	2,16/4,91
rs2771253:94068103:G:A	10	94068103	A	G	0,4837	-3,5028	0,6975	5,11E-07	-4,87/-2,14
rs2771248:94064428:A:G	10	94064428	G	A	0,4837	-3,5023	0,6974	5,11E-07	-4,87/-2,14
rs2798254:94070742:T:C	10	94070742	C	T	0,4837	-3,5002	0,6974	5,20E-07	-4,87/-2,13
rs11186914:94062631:T:A	10	94062631	A	T	0,5161	3,5052	0,6984	5,20E-07	2,14/4,87
rs35936362:94059100:G:GT	10	94059100	GT	G	0,4838	-3,4982	0,6971	5,21E-07	-4,86/-2,13
rs2254667:94058824:C:G	10	94058824	G	C	0,4838	-3,4975	0,6970	5,23E-07	-4,86/-2,13
rs2255718:94109877:G:T	10	94109877	T	G	0,4820	-3,5208	0,7019	5,28E-07	-4,9/-2,14
rs2771256:94113708:G:T	10	94113708	T	G	0,4820	-3,5184	0,7019	5,38E-07	-4,89/-2,14
rs1810811:94146269:G:A	10	94146269	A	G	0,4076	-3,6219	0,7227	5,40E-07	-5,04/-2,21
rs11186932:94103516:G:A	10	94103516	A	G	0,4295	3,5630	0,7112	5,45E-07	2,17/4,96
rs2259087:94155014:G:T	10	94155014	T	G	0,3900	-3,6156	0,7221	5,53E-07	-5,03/-2,2
rs2259052:94155390:T:C	10	94155390	C	T	0,3901	-3,6136	0,7221	5,60E-07	-5,03/-2,2
rs11186923:94089160:A:C	10	94089160	C	A	0,4301	3,5550	0,7104	5,61E-07	2,16/4,95
rs2265195:94082060:G:T	10	94082060	T	G	0,4840	-3,5065	0,7014	5,76E-07	-4,88/-2,13
rs6583804:93935403:A:G	10	93935403	G	A	0,5152	3,4800	0,6962	5,77E-07	2,12/4,84
rs11186961:94142869:T:G	10	94142869	G	T	0,4862	3,6146	0,7235	5,86E-07	2,2/5,03
rs2798249:94155846:G:A	10	94155846	A	G	0,3898	-3,6062	0,7222	5,94E-07	-5,02/-2,19
rs1812851:94077547:G:A	10	94077547	A	G	0,4293	3,5358	0,7086	6,04E-07	2,15/4,92

rs10786035:94076462:G:A	10	94076462	A	G	0,4292	3,5333	0,7084	6,10E-07	2,14/4,92
rs10882051:94133765:T:C	10	94133765	C	T	0,4142	3,6486	0,7319	6,18E-07	2,21/5,08
rs73290951:3043279:C:T	7	3043279	T	C	0,2332	-4,1946	0,8423	6,36E-07	-5,85/-2,54
rs139829909:94057923:A:ATC	10	94057923	ATC	A	0,4831	-3,4704	0,6970	6,38E-07	-4,84/-2,1
rs11186912:94062403:G:A	10	94062403	A	G	0,4286	3,5176	0,7067	6,44E-07	2,13/4,9
rs11186910:94060854:G:A	10	94060854	A	G	0,4286	3,5168	0,7066	6,45E-07	2,13/4,9
rs10748576:94036065:T:C	10	94036065	C	T	0,5160	3,4736	0,6980	6,49E-07	2,11/4,84
rs11186899:94053124:G:A	10	94053124	A	G	0,4284	3,5116	0,7060	6,57E-07	2,13/4,9
rs2995787:94159226:C:T	10	94159226	T	C	0,3894	-3,5967	0,7232	6,59E-07	-5,01/-2,18
rs2767654:93908910:G:A	10	93908910	A	G	0,5195	3,4604	0,6975	7,02E-07	2,09/4,83
rs10882028:93943900:C:T	10	93943900	T	C	0,5192	3,4521	0,6965	7,18E-07	2,09/4,82
rs7809448:3046206:G:A	7	3046206	A	G	0,2307	-4,1532	0,8383	7,25E-07	-5,8/-2,51
rs5786988:93914136:C:CA	10	93914136	CA	C	0,5193	3,4519	0,6968	7,28E-07	2,09/4,82
rs4642988:93927525:T:C	10	93927525	C	T	0,5193	3,4499	0,6965	7,29E-07	2,08/4,81
rs7078559:93924663:C:T	10	93924663	T	C	0,5193	3,4498	0,6965	7,31E-07	2,08/4,82
rs140506313:94076486:A:AT	10	94076486	AT	A	0,4263	3,5027	0,7102	8,14E-07	2,11/4,89
rs7087501	10	93930279	C	T	0,5194	3,4282	0,6960	8,42E-07	2,06/4,79
rs55641457:3046962:T:C	7	3046962	C	T	0,2333	-4,1215	0,8370	8,48E-07	-5,76/-2,48
rs10882042:94025608:G:C	10	94025608	C	G	0,5173	3,4272	0,6965	8,62E-07	2,06/4,79
rs7908721:94021393:G:A	10	94021393	A	G	0,5172	3,4268	0,6964	8,63E-07	2,06/4,79
rs4933229:94017666:T:C	10	94017666	C	T	0,5172	3,4265	0,6964	8,64E-07	2,06/4,79
rs4933228:94016987:T:A	10	94016987	A	T	0,5172	3,4264	0,6964	8,64E-07	2,06/4,79
rs3781229:94000815:T:A	10	94000815	A	T	0,5181	3,4291	0,6974	8,79E-07	2,06/4,8
rs3824734:93999850:A:G	10	93999850	G	A	0,5173	3,4203	0,6965	9,06E-07	2,06/4,79
rs111640500:94152489:CT:C	10	94152489	C	CT	0,4739	-3,4980	0,7148	9,89E-07	-4,9/-2,1
rs142481:94153146:A:AACACATA	10	94153146	(CACATAC)	A	0,3445	-3,8549	0,7878	9,92E-07	-5,4/-2,31

### Lisa 3.

Elamustejanu assotsiatsioonianalüüs tulemused. Tabelis on ära toodud kõik markerid, mille p-väärtus oli alla  $1 \times 10^{-6}$ . CI märgib beta 95% usaldusintervalli (*Confidence Interval, CI*). Lühendid: CHR – *chromosome*, kromosoom; POS – positsioon; EAF – effect allele frequency, efektalleeli sagedus; EA – *effect allele*, efektalleel; NEA – *non effect allele*, teine alleel; PVAL – *p-value*, p-väärtus.

SNP	CHR	POS	EA/NEA	EAF	BETA	SE	PVAL	CI95
rs11186965:94143306:G:A	10	94143306	A/G	0,5223	0,7611	0,1434	1,11E-07	0,48/1,04
rs11186967:94143848:C:T	10	94143848	T/C	0,5223	0,7597	0,1433	1,15E-07	0,48/1,04
rs11186966:94143315:T:C	10	94143315	C/T	0,5223	0,7598	0,1433	1,15E-07	0,48/1,04
rs2259430	10	94147345	T/C	0,4761	-0,7605	0,1435	1,15E-07	-1,04/-0,48
rs11186969:94144180:C:T	10	94144180	T/C	0,5180	0,7624	0,1442	1,25E-07	0,48/1,05
rs2257625:94145450:A:G	10	94145450	G/A	0,4761	-0,7579	0,1436	1,30E-07	-1,04/-0,48
rs2257636:94145014:C:A	10	94145014	A/C	0,4761	-0,7579	0,1436	1,30E-07	-1,04/-0,48
rs2259433:94147300:C:T	10	94147300	T/C	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs5786993:94146624:AG:A	10	94146624	A/AG	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs913647:94146634:T:G	10	94146634	G/T	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs1810810:94146243:C:T	10	94146243	T/C	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs2019640:94146113:T:C	10	94146113	C/T	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs1810809:94146088:A:G	10	94146088	G/A	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs11370930:94146047:T:TC	10	94146047	TC/T	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs913645:94146032:T:C	10	94146032	C/T	0,4759	-0,7571	0,1436	1,34E-07	-1,04/-0,48
rs11186968:94144131:G:A	10	94144131	A/G	0,5237	0,7572	0,1436	1,35E-07	0,48/1,04
rs2265199:94147632:C:T	10	94147632	T/C	0,4759	-0,7567	0,1436	1,36E-07	-1,04/-0,48
rs2771266:94148246:G:A	10	94148246	A/G	0,4760	-0,7560	0,1436	1,41E-07	-1,04/-0,47
rs2259373:94148764:G:C	10	94148764	C/G	0,4761	-0,7540	0,1437	1,53E-07	-1,04/-0,47
rs3121424:94149034:T:C	10	94149034	C/T	0,4762	-0,7527	0,1437	1,61E-07	-1,03/-0,47
rs111640500:94152489:CT:C	10	94152489	C/CT	0,4739	-0,7566	0,1445	1,65E-07	-1,04/-0,47
rs2257628:94145285:C:G	10	94145285	G/C	0,4762	-0,7521	0,1437	1,67E-07	-1,03/-0,47
rs2265200:94150707:A:G	10	94150707	G/A	0,4764	-0,7513	0,1437	1,70E-07	-1,03/-0,47
rs59549151:94151648:GAAA:G	10	94151648	G/GAAA	0,4764	-0,7505	0,1437	1,76E-07	-1,03/-0,47
rs11186964:94143195:A:T	10	94143195	T/A	0,5217	0,7710	0,1477	1,80E-07	0,48/1,06
rs2480307:94153313:G:A	10	94153313	A/G	0,4766	-0,7489	0,1437	1,87E-07	-1,03/-0,47
rs2480308:94153319:C:T	10	94153319	T/C	0,4766	-0,7489	0,1437	1,87E-07	-1,03/-0,47
rs3121426:94153435:G:T	10	94153435	T/G	0,4766	-0,7487	0,1437	1,87E-07	-1,03/-0,47
rs2987829:94153688:C:T	10	94153688	T/C	0,4766	-0,7485	0,1437	1,89E-07	-1,03/-0,47
rs2995786:94153814:T:C	10	94153814	C/T	0,4766	-0,7484	0,1437	1,90E-07	-1,03/-0,47
rs2488797:94154636:T:A	10	94154636	A/T	0,4767	-0,7475	0,1437	1,96E-07	-1,03/-0,47
rs2259090:94154893:C:T	10	94154893	T/C	0,4767	-0,7472	0,1437	1,98E-07	-1,03/-0,47
rs3121427:94159701:A:G	10	94159701	G/A	0,4768	-0,7473	0,1437	1,99E-07	-1,03/-0,47
rs11186973:94157411:C:G	10	94157411	G/C	0,5232	0,7471	0,1437	2,00E-07	0,47/1,03
rs2488796:94157185:T:C	10	94157185	C/T	0,4768	-0,7469	0,1437	2,01E-07	-1,03/-0,47
rs2480302:94157060:T:C	10	94157060	C/T	0,4768	-0,7468	0,1437	2,01E-07	-1,03/-0,47
rs2771268:94155702:T:C	10	94155702	C/T	0,4768	-0,7466	0,1437	2,02E-07	-1,03/-0,47
rs11419992:94155092:G:GA	10	94155092	GA/G	0,4763	-0,7464	0,1437	2,04E-07	-1,03/-0,46
rs10882052:94138273:C:T	10	94138273	T/C	0,4346	0,7499	0,1445	2,11E-07	0,47/1,03
rs2480306:94153247:T:C	10	94153247	C/T	0,4764	-0,7447	0,1436	2,17E-07	-1,03/-0,46
rs7903767:94138239:A:G	10	94138239	G/A	0,4346	0,7491	0,1445	2,18E-07	0,47/1,03
rs7911784:94139488:C:T	10	94139488	T/C	0,4644	0,7457	0,1445	2,45E-07	0,46/1,03
rs94059919:C:CA	10	94059919	CA/C	0,4253	0,7468	0,1449	2,54E-07	0,46/1,03
rs11186960:94142607:C:A	10	94142607	A/C	0,4637	0,7421	0,1441	2,61E-07	0,46/1,02
rs11186953:94134407:C:A	10	94134407	A/C	0,4326	0,7441	0,1446	2,68E-07	0,46/1,03

rs12357015:94134525:A:G	10	94134525	G/A	0,4327	0,7440	0,1446	2,68E-07	0,46/1,03
rs11186959:94140831:G:A	10	94140831	A/G	0,4634	0,7417	0,1442	2,72E-07	0,46/1,02
rs11186957:94139014:A:C	10	94139014	C/A	0,4627	0,7419	0,1443	2,73E-07	0,46/1,02
rs11186956:94138839:G:A	10	94138839	A/G	0,4278	0,7445	0,1451	2,89E-07	0,46/1,03
rs11186950:94133040:A:G	10	94133040	G/A	0,4320	0,7408	0,1446	2,99E-07	0,46/1,02
rs7912223:94139842:C:G	10	94139842	G/C	0,4634	0,7396	0,1443	3,00E-07	0,46/1,02
rs11186949:94132842:C:T	10	94132842	T/C	0,4318	0,7406	0,1446	3,01E-07	0,46/1,02
rs11186958:94139274:A:G	10	94139274	G/A	0,4632	0,7392	0,1443	3,04E-07	0,46/1,02
10:94130479:G:GA	10	94130479	GA/G	0,3972	0,7826	0,1529	3,05E-07	0,48/1,08
rs7070822:94130833:G:A	10	94130833	A/G	0,4309	0,7351	0,1444	3,56E-07	0,45/1,02
rs11511268:94124587:G:A	10	94124587	A/G	0,4293	0,7298	0,1440	4,03E-07	0,45/1,01
rs9665554:94129317:C:T	10	94129317	T/C	0,4301	0,7302	0,1442	4,09E-07	0,45/1,01
rs11025632:20599927:G:C	11	20599927	C/G	0,3551	-0,8257	0,1632	4,22E-07	-1,15/-0,51
rs11025633:20599928:G:C	11	20599928	C/G	0,3551	-0,8257	0,1632	4,22E-07	-1,15/-0,51
rs11186945:94128660:T:A	10	94128660	A/T	0,4298	0,7279	0,1441	4,36E-07	0,45/1,01
rs11186944:94128586:C:T	10	94128586	T/C	0,4298	0,7276	0,1440	4,39E-07	0,45/1,01
rs68009203:94153752:C:CT	10	94153752	CT/C	0,4201	-0,7734	0,1532	4,44E-07	-1,07/-0,47
rs11186942:94128166:A:C	10	94128166	C/A	0,4296	0,7260	0,1440	4,58E-07	0,44/1,01
rs7090556:94128186:A:G	10	94128186	G/A	0,4296	0,7258	0,1440	4,61E-07	0,44/1,01
rs11186941:94128005:T:G	10	94128005	G/T	0,4295	0,7255	0,1439	4,65E-07	0,44/1,01
rs11186940:94126651:T:C	10	94126651	C/T	0,4295	0,7254	0,1439	4,65E-07	0,44/1,01
rs7070786:94123687:C:T	10	94123687	T/C	0,4295	0,7253	0,1439	4,66E-07	0,44/1,01
rs77948062:94122306:A:T	10	94122306	T/A	0,4295	0,7253	0,1439	4,66E-07	0,44/1,01
rs72809114:94121534:T:G	10	94121534	G/T	0,4295	0,7253	0,1439	4,67E-07	0,44/1,01
rs72809117:94121562:T:G	10	94121562	G/T	0,4295	0,7253	0,1439	4,67E-07	0,44/1,01
rs7078190:94120376:G:T	10	94120376	T/G	0,4295	0,7252	0,1439	4,67E-07	0,44/1,01
rs6583811:94119943:C:T	10	94119943	T/C	0,4295	0,7252	0,1439	4,67E-07	0,44/1,01
rs6583812:94128379:A:G	10	94128379	G/A	0,4298	0,7255	0,1440	4,69E-07	0,44/1,01
rs7090404:94128012:C:T	10	94128012	T/C	0,4295	0,7252	0,1439	4,69E-07	0,44/1,01
rs7080630:94125874:C:T	10	94125874	T/C	0,4295	0,7251	0,1439	4,69E-07	0,44/1,01
rs73320238:94125441:A:G	10	94125441	G/A	0,4295	0,7251	0,1439	4,69E-07	0,44/1,01
rs11186926:94098321:G:C	10	94098321	C/G	0,4293	0,7240	0,1437	4,75E-07	0,44/1,01
rs10882050:94117786:C:T	10	94117786	T/C	0,4294	0,7246	0,1439	4,76E-07	0,44/1,01
rs35801442:94117421:C:CT	10	94117421	CT/C	0,4293	0,7244	0,1439	4,78E-07	0,44/1,01
rs10882049:94117046:G:A	10	94117046	A/G	0,4293	0,7242	0,1439	4,81E-07	0,44/1,01
rs7080813:94116891:T:C	10	94116891	C/T	0,4293	0,7241	0,1439	4,82E-07	0,44/1,01
rs11186856:93964017:A:G	10	93964017	G/A	0,2829	0,7890	0,1568	4,88E-07	0,48/1,1
rs61875243:94110118:A:G	10	94110118	G/A	0,4293	0,7227	0,1438	5,00E-07	0,44/1
rs1057848:94112156:G:C	10	94112156	C/G	0,4291	0,7221	0,1438	5,10E-07	0,44/1
rs11186931:94103409:G:C	10	94103409	G/C	0,4290	0,7217	0,1437	5,14E-07	0,44/1
rs12358967:94097132:G:A	10	94097132	A/G	0,4290	0,7214	0,1437	5,17E-07	0,44/1
rs61875241:94096803:C:T	10	94096803	T/C	0,4290	0,7214	0,1437	5,17E-07	0,44/1
rs10509644:94094762:G:A	10	94094762	A/G	0,4290	0,7213	0,1437	5,18E-07	0,44/1
rs61875240:94092300:G:A	10	94092300	A/G	0,4290	0,7212	0,1437	5,20E-07	0,44/1
rs71028804:94146129:A:AT	10	94146129	AT/A	0,4570	-0,7292	0,1457	5,54E-07	-1,01/-0,44
rs2259053:94155360:G:A	10	94155360	A/G	0,4852	-0,7214	0,1441	5,58E-07	-1/-0,44
rs746842:94050988:C:G	10	94050988	G/C	0,2782	0,7828	0,1566	5,81E-07	0,48/1,09
rs11186866:93992666:G:A	10	93992666	A/G	0,2772	0,7826	0,1567	5,90E-07	0,48/1,09
rs10882031:93962597:C:T	10	93962597	T/C	0,2773	0,7811	0,1567	6,20E-07	0,47/1,09
6:107913172:GTTTTTTTTT:G	6	107913172	G/GTTTTTTTTT	0,3359	-0,8239	0,1654	6,32E-07	-1,15/-0,5
rs11186932:94103516:G:A	10	94103516	A/G	0,4295	0,7155	0,1438	6,49E-07	0,43/1
rs11186923:94089160:A:C	10	94089160	C/A	0,4301	0,7145	0,1437	6,60E-07	0,43/1
rs7905301:93950230:G:C	10	93950230	C/G	0,2776	0,7781	0,1566	6,71E-07	0,47/1,08
rs11186859:93977809:C:G	10	93977809	G/C	0,2775	0,7779	0,1566	6,75E-07	0,47/1,08
rs10882030:93959016:C:T	10	93959016	T/C	0,2775	0,7779	0,1566	6,76E-07	0,47/1,08
rs144433902:93939959:G:T:G	10	93939959	G/GT	0,2775	0,7779	0,1566	6,76E-07	0,47/1,08
rs61875221:93970523:G:A	10	93970523	A/G	0,2775	0,7778	0,1566	6,77E-07	0,47/1,08

rs61875208:93944342:T:C	10	93944342	C/T	0,2775	0,7775	0,1566	6,84E-07	0,47/1,08
rs11186867:93993811:C:T	10	93993811	T/C	0,2775	0,7774	0,1566	6,85E-07	0,47/1,08
rs10882037	10	93977203	G/A	0,2775	0,7774	0,1566	6,85E-07	0,47/1,08
rs11186860:93979316:C:T	10	93979316	T/C	0,2775	0,7774	0,1566	6,85E-07	0,47/1,08
rs9787608:93980763:T:C	10	93980763	C/T	0,2775	0,7774	0,1566	6,85E-07	0,47/1,08
rs7071524:93939437:T:C	10	93939437	C/T	0,2775	0,7774	0,1566	6,86E-07	0,47/1,08
rs3781230:93944639:T:C	10	93944639	C/T	0,2775	0,7773	0,1566	6,88E-07	0,47/1,08
rs3781231:93936664:T:C	10	93936664	C/T	0,2775	0,7773	0,1566	6,88E-07	0,47/1,08
rs2421831:93941965:C:G	10	93941965	G/C	0,2775	0,7773	0,1566	6,88E-07	0,47/1,08
rs7067935:93935226:C:T	10	93935226	T/C	0,2775	0,7773	0,1566	6,88E-07	0,47/1,08
rs11186841:93919684:A:C	10	93919684	C/A	0,2776	0,7774	0,1566	6,91E-07	0,47/1,08
rs11186843:93927646:G:A	10	93927646	A/G	0,2775	0,7771	0,1566	6,92E-07	0,47/1,08
rs11186898:94049988:G:T	10	94049988	T/G	0,2775	0,7766	0,1566	7,07E-07	0,47/1,08
rs11186897:94048558:C:G	10	94048558	G/C	0,2775	0,7765	0,1566	7,08E-07	0,47/1,08
rs10882038:94005134:T:C	10	94005134	C/T	0,2774	0,7763	0,1566	7,10E-07	0,47/1,08
rs6583805:94006442:C:T	10	94006442	T/C	0,2774	0,7763	0,1566	7,10E-07	0,47/1,08
rs12355759:94044168:C:T	10	94044168	T/C	0,2774	0,7763	0,1566	7,10E-07	0,47/1,08
rs11186895:94043445:C:A	10	94043445	A/C	0,2774	0,7763	0,1566	7,10E-07	0,47/1,08
rs11186894:94043285:T:C	10	94043285	C/T	0,2774	0,7763	0,1566	7,11E-07	0,47/1,08
rs56239008:94040313:T:C	10	94040313	C/T	0,2774	0,7762	0,1566	7,12E-07	0,47/1,08
rs11186892:94040049:G:A	10	94040049	A/G	0,2774	0,7762	0,1566	7,12E-07	0,47/1,08
rs11186839:93914520:C:G	10	93914520	G/C	0,2775	0,7765	0,1566	7,13E-07	0,47/1,08
rs11186896:94046972:G:A	10	94046972	A/G	0,2775	0,7763	0,1566	7,14E-07	0,47/1,08
rs11186888:94031482:T:C	10	94031482	C/T	0,2774	0,7760	0,1565	7,15E-07	0,47/1,08
rs10882044:94036099:G:A	10	94036099	A/G	0,2775	0,7760	0,1565	7,15E-07	0,47/1,08
rs11186884:94028556:T:C	10	94028556	C/T	0,2774	0,7759	0,1565	7,16E-07	0,47/1,08
rs12358765:94044074:A:G	10	94044074	G/A	0,2775	0,7760	0,1566	7,18E-07	0,47/1,08
rs77526576:94021195:T:C	10	94021195	C/T	0,2774	0,7757	0,1565	7,18E-07	0,47/1,08
rs11186881:94020499:G:A	10	94020499	A/G	0,2774	0,7757	0,1565	7,19E-07	0,47/1,08
rs11186880:94020021:C:T	10	94020021	T/C	0,2774	0,7756	0,1565	7,19E-07	0,47/1,08
rs11186878:94016655:G:T	10	94016655	T/G	0,2774	0,7755	0,1565	7,20E-07	0,47/1,08
rs11186875:94012909:G:T	10	94012909	T/G	0,2774	0,7756	0,1565	7,21E-07	0,47/1,08
rs12358721:94013666:A:C	10	94013666	C/A	0,2774	0,7756	0,1565	7,21E-07	0,47/1,08
rs11186876:94014403:T:C	10	94014403	C/T	0,2774	0,7755	0,1565	7,21E-07	0,47/1,08
rs17107517:94033473:T:C	10	94033473	C/T	0,2775	0,7757	0,1565	7,21E-07	0,47/1,08
rs11186879:94019613:C:T	10	94019613	T/C	0,2774	0,7753	0,1565	7,26E-07	0,47/1,08
rs12359038:94017691:T:G	10	94017691	G/T	0,2774	0,7752	0,1565	7,27E-07	0,47/1,08
rs7073862:94009709:T:G	10	94009709	G/T	0,2773	0,7755	0,1565	7,28E-07	0,47/1,08
rs7074059:94018965:C:T	10	94018965	T/C	0,2775	0,7752	0,1565	7,28E-07	0,47/1,08
rs6583802:93912076:G:A	10	93912076	A/G	0,2776	0,7757	0,1567	7,36E-07	0,47/1,08
rs11186870:94000310:G:A	10	94000310	A/G	0,2772	0,7748	0,1566	7,48E-07	0,47/1,08
rs1812851:94077547:G:A	10	94077547	A/G	0,4293	0,7091	0,1433	7,53E-07	0,43/0,99
rs10786035:94076462:G:A	10	94076462	A/G	0,4292	0,7083	0,1433	7,69E-07	0,43/0,99
rs7088903	10	94014958	T/C	0,2779	0,7728	0,1564	7,80E-07	0,47/1,08
rs111894637:93993882:G:A	10	93993882	A/G	0,2773	0,7733	0,1566	7,92E-07	0,47/1,08
rs10882051:94133765:T:C	10	94133765	C/T	0,4142	0,7306	0,1481	8,03E-07	0,44/1,02
rs28661623:93988575:A:G	10	93988575	G/A	0,2772	0,7734	0,1568	8,05E-07	0,47/1,08
rs11186868:93994848:T:G	10	93994848	G/T	0,2771	0,7729	0,1568	8,20E-07	0,47/1,08
rs11186912:94062403:G:A	10	94062403	A/G	0,4286	0,7030	0,1429	8,74E-07	0,42/0,98
rs11186910:94060854:G:A	10	94060854	A/G	0,4286	0,7028	0,1429	8,79E-07	0,42/0,98
rs11186899:94053124:G:A	10	94053124	A/G	0,4284	0,7011	0,1428	9,16E-07	0,42/0,98

## **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Timo Tõnis Sikka

(sünnikuupäev: 01.06.1991)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

**„CTNNA2 geenis paiknevate järjestusvariantide mõju elamustejanu kujunemisel”,**

mille juhendajad on Tõnu Esko ja Evelin Mihailov

1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace´i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 26.05.2015