

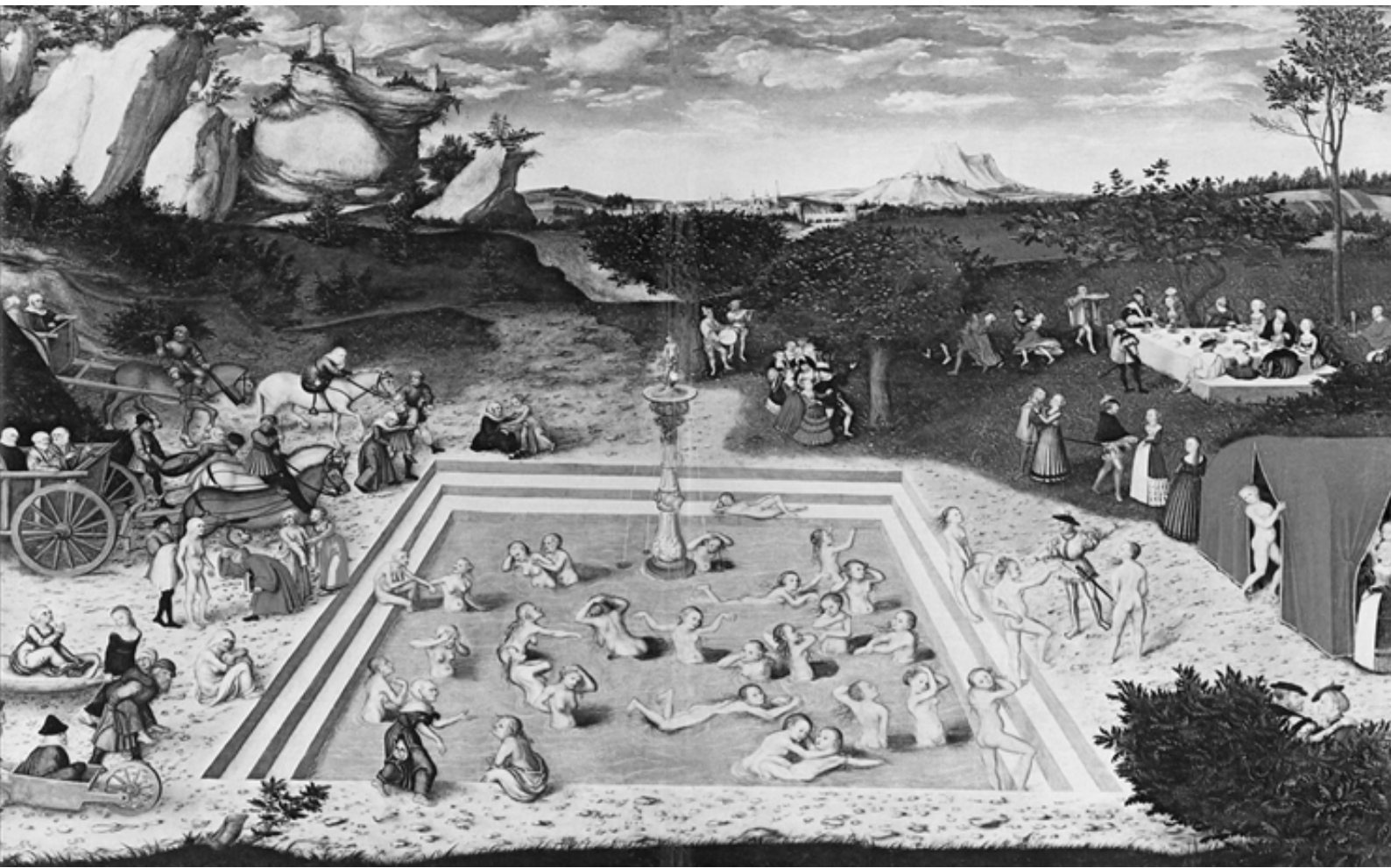


Genetische Untersuchung entzündungsrelevanter Altersgene

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Liljana Gentschew M.Sc.

Kiel, 2014



Titelbild: Lucas Cranach d.Ä.: *Der Jungbrunnen*, 1546; Staatliche Museen zu Berlin,
Gemäldegalerie

Genetische Untersuchung entzündungsrelevanter Altersgene

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Liljana Gentschew M.Sc.



Kiel, 2014

1. Gutachter: Prof. Dr. Manuela Dittmar
2. Gutachter: PD Dr. Friederike Flachsbart

Tag der mündlichen Prüfung: 23.02.2015

Zum Druck genehmigt:

Dekan:

„Um klar zu sehen, genügt oft ein Wechsel der Blickrichtung.“

Antoine de Saint-Exupéry

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	XI
Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	XIII
1 Einleitung	1
1.1 Langlebigkeit des Menschen	1
1.1.1 Aktuelle demografische Entwicklungen	1
1.1.2 Determinanten und Besonderheiten des Phänotyps Langlebigkeit	2
1.1.3 Zusammenhang zwischen Entzündungen und Langlebigkeit	5
1.2 Genetische Aspekte der Langlebigkeit	6
1.2.1 Genetische Befunde bei Modellorganismen.....	6
1.2.2 Genetische Befunde beim Menschen	7
1.3 Strategien zur Identifizierung von genetischen Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen	9
1.3.1 Untersuchung von funktionell relevanten Einzelbasenvariationen	9
1.3.2 Kandidatengenstudien	11
1.3.2.1 Genetische Untersuchungen der Superoxiddismutasen	11
1.3.2.2 Genetische Untersuchungen des Cholesterinester-Transferproteins.....	12
1.3.2.3 <i>FOXO3A</i> , ein bestätigtes Kandidatengen für Langlebigkeit.....	14
1.4 Ziele der Arbeit	17
2 Material	19
2.1 Verwendete Kits, Enzyme und Chemikalien	19
2.2 Primersequenzen	20
2.3 Geräte	21
2.4 Software, Tools und Datenbanken	22
3 Methoden	23
3.1 Deutsche Studienpopulation	23
3.2 Auswahl der Fallstichprobe	23
3.3 Auswahl der Kontrollstichprobe	24
3.4 Powerkalkulation	25

3.5	Replikation der Assoziationsbefunde in einer französischen Stichprobe	26
3.6	Extraktion und Amplifikation genomischer DNA aus Vollblut.....	27
3.7	Generierung von <i>long-range</i> PCR-Produkten für <i>FOXO3A</i>-spezifische Genregionen	27
3.8	Resequenzierung der gesamten <i>FOXO3A</i>-Genregion.....	29
3.8.1	DNA-Sequenzierung nach Sanger.....	29
3.8.2	DNA-Sequenzierung mittels SOLiD-Technologie	30
3.8.3	DNA-Sequenzierung mittels Illumina-Technologie	32
3.9	SNV-Auswahl für die Genotypisierung.....	34
3.9.1	SNV-Auswahl für die <i>SOD1</i> -, <i>SOD2</i> - und <i>SOD3</i> -Genregion.....	34
3.9.2	SNV-Auswahl für die <i>CETP</i> -Genregion.....	34
3.9.3	SNV-Auswahl für die <i>FOXO3A</i> -Genregion.....	35
3.9.4	SNV-Zusammensetzung des Immunochips	36
3.10	SNV-Genotypisierung	37
3.10.1	Genotypisierung mittels TaqMan-Technologie.....	37
3.10.2	Genotypisierung mittels Sequenom-Technologie	37
3.10.3	Immunochip-Technologie	38
3.11	Statistische Analysen.....	38
3.12	<i>In silico</i> Analysen von <i>FOXO3A</i>-SNVs.....	39
3.12.1	Bioinformatische Tools zur Identifizierung von potentiell funktionellen Effekten der exonischen <i>FOXO3A</i> -SNVs	39
3.12.2	Vorhersage-Tools für Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten.....	39
3.13	Funktionelle Studien zur Validierung <i>FOXO3A</i>-spezifischer <i>in silico</i> Befunde.....	40
3.13.1	Untersuchung genotypabhängiger Effekte auf die <i>FOXO3A</i> -Genexpression.....	40
3.13.2	Untersuchung von gewebe- und zelltypspezifischen Genexpressionsmustern	40
3.13.3	Untersuchung allelspezifischer Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten mittels <i>Supershift-Assay</i>	41
4	Ergebnisse	42
4.1	Genvarianten von <i>SOD1</i>, <i>SOD2</i> und <i>SOD3</i> zeigen keine Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit in der deutschen Studienpopulation.....	42
4.1.1	Charakterisierung von 19 ausgewählten <i>tagging</i> SNVs für die <i>SOD1</i> -, <i>SOD2</i> - und <i>SOD3</i> -Genregion	42
4.1.2	Assoziationsanalysen von 19 <i>tagging</i> SNVs in der <i>SOD1</i> , <i>SOD2</i> und <i>SOD3</i> -Genregion	43

4.2	Das <i>CETP</i>-Gen als potentielles Kandidatengen für Langlebigkeit.....	44
4.2.1	Charakterisierung von 32 ausgewählten <i>tagging</i> SNVs für die <i>CETP</i> -Genregion	44
4.2.2	Assoziationsanalysen von 32 <i>tagging</i> SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion.....	46
4.2.3	Replikationsstudien	51
4.3	Untersuchungen von <i>FOXO3A</i> deuten auf funktionell relevante SNVs für Langlebigkeit beim Menschen.....	52
4.3.1	<i>FOXO3A</i> -spezifische <i>long-range</i> Produkte ermöglichen eine verlässliche Sequenzierung und Genotypisierung von <i>FOXO3A</i>	52
4.3.2	Resequenzierung des <i>FOXO3A</i> -Gens mittels SOLiD-, Illumina- und Sanger-Technologie	53
4.3.2.1	Sequenzierung der gesamten <i>FOXO3A</i> -Genregion mittels SOLiD- und Illumina Technologie	53
4.3.2.2	Sequenzierung der Promotorregion und exonischen Bereiche mittels Sanger-Technologie	55
4.3.3	Auswahl von 253 SNVs für die <i>FOXO3A</i> -Genregion in potentiell regulatorischen Bereichen	57
4.3.4	Assoziationsanalysen von ausgewählten SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion.....	59
4.3.5	<i>In silico</i> Analysen von <i>FOXO3A</i> -SNVs.....	66
4.3.5.1	Suche nach SNVs mit potentiell funktionellen Effekten.....	66
4.3.5.2	Detektion von <i>FOXO3A</i> -SNVs in potentiell relevanten Transkriptionsfaktor-Bindestellen	66
4.3.6	Replikationsstudien	67
4.3.7	Funktionelle Studien.....	68
4.3.7.1	Untersuchung genotypabhängiger Effekte auf die <i>FOXO3A</i> -Genexpression.....	68
4.3.7.2	Untersuchung von gewebe- und zelltypspezifischen Genexpressionsmustern	69
4.3.7.3	Untersuchung allelspezifischer Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten mittels <i>Supershift-Assay</i>	69
4.4	Genomweite SNV-Chip-basierte Assoziationsanalysen	70
4.4.1	Auswahl von 18 SNVs für Replikationsstudien.....	70
4.4.2	Replikationsstudien	73
5	Diskussion.....	75
5.1	Komplexität des Phänotyps Langlebigkeit.....	75
5.2	Bedeutung von Kandidatengenstudien für die Langlebigkeitsforschung.....	77
5.3	Herausforderung bei der Replikation von Assoziationsbefunden in unabhängigen Studienpopulationen	78

5.4	Bewertung der in dieser Studie beobachteten genetischen Befunde	80
5.4.1	Keine statistisch signifikanten Assoziationsbefunde für SNVs in den <i>Superoxiddismutasen</i>	80
5.4.2	Die Rolle von CETP im Lipoproteinstoffwechsel	81
5.4.3	Charakterisierung von SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion	84
5.4.3.1	Genetische Regulation des Insulin-IGF1-Signalwegs bei langlebigen Individuen.....	88
5.4.3.2	Die Rolle von <i>FOXO3A</i> bei Entzündungsprozessen.....	89
5.4.3.3	Geschlechtsspezifische Unterschiede von genetischen Varianten in <i>FOXO3A</i>	90
5.4.4	Identifizierung von neuen Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen mittels ImmunoChip-Typisierung.....	92
5.5	Übertragung genetischer Befunde in die klinische Medizin.....	93
5.6	Schlussfolgerung und Ausblick	95
6	Zusammenfassung	98
7	Summary	100
8	Anhang	102
9	Referenzen.....	162
10	Lebenslauf	184
11	Danksagung.....	186
12	Erklärung.....	188

Abkürzungsverzeichnis

AKT	Proteinkinase B, engl. <i>v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1</i>
APOE	Apolipoprotein E
C.I.	Konfidenzintervall
CE	Cholesterinester
CEPH	Centre d'Etude du Polymorphisme Humain
CETP	Cholesterinester-Transferprotein
ddNTP	Didesoxyribonukleosid-Triphosphate
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ENCODE	<i>Encyclopedia of DNA Elements</i>
Exo I	Exonuklease I
FOXO	Forkhead-Box-Protein
GAPDH	Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
GWAS	Genomweite Assoziationsstudien
HALE	Gesunde Lebenserwartung, engl. <i>healthy life expectancy</i>
HDL	Lipoproteine hoher Dichte, engl. <i>high-density lipoprotein</i>
HWE	Hardy-Weinberg-Gleichgewicht, engl. <i>Hardy-Weinberg equilibrium</i>
IGF1	Insulinähnlicher Wachstumsfaktor, engl. <i>insulinlike growth factor 1</i>
IL	Interleukin
LD	Kopplungsungleichgewicht, engl. <i>linkage disequilibrium</i>
LDL	Lipoproteine geringer Dichte, engl. <i>low-density lipoprotein</i>
LLI	Langlebige Individuen
MADT	<i>Study of Middle-Aged Danish Twins</i>
MAF	Frequenz des seltenen Alleles, engl. <i>minor allele frequency</i>
MALDI-TOF	Matrixunterstützte Laser-Desorptions-Ionisation mit Flugzeitmassenspektrometer-Detektion, engl. <i>Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation-Time Of Flight</i>
MDA	Multiple Verdrängungsamplifikation, engl. <i>multiple displacement amplification</i>
NGS	Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation, engl. <i>Next-Generation Sequencing</i>
OR	Chancenverhältnis, engl. <i>odds ratio</i>
P _{CCA}	Allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test ermittelt wurden
P _{CCG}	Genotypbasierte p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll- Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test ermittelt wurden
PDK1	3-Phosphoinositid-abhängige Proteinkinase 1
PDX1	<i>Pancreatic and duodenal homeobox 1</i>
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
pRLTK	<i>Plasmid of renilla luciferase-thymidine kinase</i>
RAD50	<i>Radiation sensitive, Saccharomyces cerevisiae homolog</i>
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies, engl. <i>reactive oxygen species</i>
SAP	<i>Shrimp alkaline phosphatase</i>

SNV	Einzelbasenvariation, engl. <i>single nucleotide variant</i>
SOD	Superoxiddismutase
SOLiD	Sequenzierung durch Ligation, engl. <i>sequencing by oligonucleotide ligation and detection</i>
SRF	<i>Serum response factor</i>
SU.IV.MAX	<i>Supplementation in Vitamins and Mineral Antioxidants Study</i>
TH	T-Helferzellen
TG	Triglyzerid
TGF	Transformierender Wachstumsfaktor, engl. <i>transforming growth factor</i>
VLDL	Lipoproteine sehr geringer Dichte, engl. <i>very low-density lipoprotein</i>
WGA	Gesamtgenom-Amplifikation, engl. <i>whole genome amplification</i>

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Nr.

1-1	Anstieg der Lebenserwartung von Frauen in den westlichen Industrienationen im Vergleich zum jeweiligen rekordhaltenden Land von 1840-2007.....	1
1-2	Bedeutung von SNVs in regulatorischen Bereichen für Transkriptions- und Translationsprozesse.....	10
1-3	Pro- und anti-atherogene Effekte von CETP im Lipoprotein-Metabolismus.....	13
1-4	Regulation von <i>FOXO3A</i> durch den Insulin-IGF1-Signalweg.....	16
1-5	Strategien zur Identifizierung von funktionellen SNVs, die eine Assoziation mit Langlebigkeit beim Menschen zeigen.....	18
3-1	Powerberechnung mit 1.612 LLI und 1.104 jüngeren Kontrollen (A) sowie mit 1.463 LLI und 6.464 jüngeren Kontrollen (B) für verschiedene Frequenzen des seltenen Allels mittels PS 3.0 Software.....	26
3-2	Darstellung der <i>FOXO3A</i> - und <i>FOXO3B</i> -Genstruktur.....	28
3-3	Prinzip der DNA-Sequenzierung nach Sanger.....	30
3-4	Prinzip der DNA-Sequenzierung mittels SOLiD-Technologie.....	32
3-5	Prinzip der DNA-Sequenzierung mittels Illumina-Technologie.....	33
3-6	Schematische Darstellung der bioinformatischen Schritte für das <i>variant calling</i> von SOLiD- (a) und Illumina (b)- Sequenzen.....	34
4-1	Assoziationsbefunde für 32 SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion (1.612 LLI \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	50
4-2	Schematische Darstellung der <i>CETP</i> -Genregion auf Chromosom 16.....	50
4-3	Generierung von 23 <i>long-range</i> PCR-Produkten als Ausgangsmaterial für die SOLiD-Sequenzierung der gesamten <i>FOXO3A</i> -Genregion.....	53
4-4	Sequenzabdeckung der gesamten <i>FOXO3A</i> -Genregion mittels SOLiD (A) und Illumina (B).....	54
4-5	Anzahl detektierter SNVs mittels SOLiD- und Illumina-Sequenzierung der gesamten <i>FOXO3A</i> -Genregion.....	55

4-6	Assoziationsbefunde für 54 signifikante SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	64
4-7	Assoziationsergebnisse für alle getesteten 205 SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion auf Chromosom 6 (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen).....	65
4-8	Assoziationsergebnisse für alle getesteten 205 SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion auf Chromosom 6 (1.109 LLI ≥ 95 Jahre und 918 jüngere Kontrollen).....	65
4-9	Schematische Darstellung von Transkriptionsfaktor-Bindestellen für SRF und PDX1 in Anlehnung an die vorhergesagten Bindestellenaffinitäten mittels sTRAP (http://trap.molgen.mpg.de/cgi-bin/trap_two_seq_form.cgi).....	67
4-10	Genexpressionsmuster von <i>SRF</i> , <i>PDX1</i> und <i>FOXO3A</i> in verschiedenen Geweben und Zelllinien.....	69
4-11	Supershift-Assays zur Untersuchung von Transkriptionsfaktor-Bindestellen für SRF und PDX1 an einer <i>FOXO3A</i> -spezifischen Sequenz mit dem A- oder G-Allel von rs4946935.....	70
4-12	Assoziationsergebnisse für SNVs in der <i>RAD50</i> -Genregion im Rahmen der Immuno-chip-Analyse.....	72
5-1	Bisherige Assoziationsbefunde für SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion (1.612 ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	82
8-1	Schematische Darstellung der <i>SOD</i> -Genregionen auf Chromosom 21 (a), 6 (b) und 4 (c).....	159
8-2	<i>Side-by-side</i> Alignment für stark homologe Bereiche zwischen der <i>FOXO3A</i> - und <i>FOXO3B</i> -Sequenz.....	160
8-3	LD-Plot für rs4946935, rs12206094 und rs2802288.....	161

Tabellen

Nr.

1-1	Besonderheiten im Profil von langlebigen Individuen.....	4
1-2	Bisher identifizierte und bestätigte Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen.....	8
3-1	Charakterisierung der Fall- und Kontrollstichprobe zur Detektion genetischer Varianten in den Kandidatengen <i>FOXO3A</i> , <i>SOD</i> und <i>CETP</i> (Strategie A).....	25
3-2	Charakterisierung der Fall- und Kontrollstichprobe zur Detektion genetischer Varianten in möglichen neuen Suszeptibilitätsloci mittels SNV-Chip-Technologie (ImmunoChip).....	25
3-3	Strategien zur Resequenzierung der gesamten <i>FOXO3A</i> -Genregion in 232 LLI (≥ 100 Jahre) und 218 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre).....	29
3-4	Auswahl von SNVs in potentiell regulatorischen Bereichen.....	36
4-1	Ausgewählte <i>tagging</i> SNVs in der <i>SOD1</i> -, <i>SOD2</i> - und <i>SOD3</i> -Genregion mit Angabe zu den beiden SNV-Allelen sowie SNV-Position und -Lokalisation.....	42
4-2	Bisherige signifikante Assoziationsbefunde ($p < 0,05$) mit dem Phänotyp Langlebigkeit für genetische Varianten in <i>SOD1</i> , <i>SOD2</i> und <i>SOD3</i>	43
4-3	Assoziationsbefunde für 19 SNVs in der <i>SOD1</i> -, <i>SOD2</i> - und <i>SOD3</i> -Genregion (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	44
4-4	Ausgewählte <i>tagging</i> SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion mit Angabe zu den beiden SNV-Allelen sowie SNV-Position und -Lokalisation.....	45
4-5	Bisherige signifikante Assoziationsbefunde ($p < 0,05$) mit dem Phänotyp Langlebigkeit für genetische Varianten in <i>CETP</i>	46
4-6	Assoziationsbefunde für SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	48
4-7	Assoziationsbefunde für rs1864163 in der französischen Replikationsstichprobe (1.264 LLI ≥ 90 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren).....	51
4-8	Generierte Genotypen von acht Individuen für den rs4645816 im Rahmen der Genotypisierung und Sequenzierung.....	53
4-9	Detektierte SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion unter Anwendung der Sanger-Sequenzieretechnologie.....	55

4-10	Position und Lokalisation von <i>FOXO3A</i> -SNVs in exonischen Bereichen und der Promotorregion, die mittels Sanger-Sequenzierung detektiert wurden.....	56
4-11	SNV-Lokalisation von allen ausgewählten 253 <i>FOXO3A</i> -SNVs.....	58
4-12	Bisherige signifikante Assoziationsbefunde ($p < 0,05$) mit dem Phänotyp Langlebigkeit für genetische Varianten in <i>FOXO3A</i>	58
4-13	Statistisch signifikante Assoziationen für 54 SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion ($p < 0,05$).....	61
4-14	Assoziationsbefunde für drei <i>FOXO3A</i> -SNVs in der französischen Replikationsstichprobe.....	68
4-15	Assoziationsergebnisse von 18 ausgewählten SNVs im Rahmen der Immunochip-Analyse.....	71
4-16	Assoziationsbefunde für die 18 ausgewählten SNVs in der französischen Replikationsstichprobe.....	73
5-1	Bisherige signifikante Assoziationsbefunde für LD-SNVs von rs4946935 und rs2802288.....	87
8-1	Assoziationsbefunde für 19 SNVs in der <i>SOD1</i> -, <i>SOD2</i> - und <i>SOD3</i> -Genregion (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	102
8-2	Haplotypanalyse für SNVs in der <i>SOD1</i> -, <i>SOD2</i> - und <i>SOD3</i> -Genregion (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen).....	103
8-3	Assoziationsbefunde für SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	103
8-4	Geschlechtsspezifische Assoziationsanalyse für 32 SNVs in der <i>CETP</i> -Genregion (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	104
8-5	<i>In silico</i> Analyse für rs5882 und rs180077 unter Anwendung von Polyphen-2, MutPred, PhyloP, SNAP, SNPs&Go und SIFT.....	106
8-6	Detektierte SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion unter Anwendung der SOLiD-Technologie.....	106
8-7	Detektierte SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion unter Anwendung der Illumina-Technologie.....	120
8-8	SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion, die aus der Assoziationsanalyse ausgeschlossen wurden.....	129
8-9	Assoziationsanalyse und statistische Tests für 205 SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	130

8-10	Geschlechtsspezifische Assoziationsanalyse für 205 SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion (594 LLI \geq 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren).....	148
8-11	<i>In silico</i> Analyse von sechs non-synonymous SNVs in der <i>FOXO3A</i> -Genregion unter Anwendung von Polyphen-2, MutPred, PhyloP, SNAP, SNPs&Go und SIFT.....	156
8-12	Assoziationsbefunde für drei <i>FOXO3A</i> -SNVs in der französischen Replikationsstichprobe (Subpopulation mit hundertjährigen LLI).....	157
8-13	Assoziationsbefunde für die 18 ausgewählten SNVs in der französischen Replikationsstichprobe (Subpopulation mit hundertjährigen LLI).....	157

1 Einleitung

1.1 Langlebigkeit des Menschen

1.1.1 Aktuelle demografische Entwicklungen

Seit mehr als 140 Jahren ist in Deutschland ein kontinuierlicher Anstieg der zu erwartenden Lebensjahre bei der Geburt zu verzeichnen (Statistisches Bundesamt, 2013). Während die Lebenserwartung Neugeborener im Jahr 1871 noch bei 35,6 Jahren für Jungen und 38,5 Jahren für Mädchen lag, ist im Jahr 2011 eine Zunahme von mehr als 40 Lebensjahren auf 77,7 Jahre für Jungen und 82,7 Jahren für Mädchen zu beobachten (Statistisches Bundesamt, 2013). Auch in anderen westlichen Industrienationen wie z.B. Japan, Westeuropa, Kanada und Neuseeland ist die Lebenserwartung innerhalb der letzten Jahrzehnte angestiegen (Salomon et al., 2012; Statistisches-Bundesamt, 2013; WHO, 2014). Das bisher höchste und durch eine Geburtsurkunde bestätigte Alter von 122 Jahren wurde von der Französin Jeanne Calment erreicht (Coles, 2004). Auf der Basis mathematischer Modelle unter Berücksichtigung von Überlebenswahrscheinlichkeiten wird die maximale Lebensspanne beim Menschen auf bis zu 126 Jahren geschätzt (Weon and Je, 2009). Die geschätzte Anzahl maximal erreichbarer Lebensjahre könnte jedoch noch überschritten werden, da sich der Anstieg der Lebenserwartung innerhalb der letzten Jahrzehnte nicht verlangsamt hat, sondern linear ansteigt (Oeppen and Vaupel, 2002) (Abbildung 1-1).

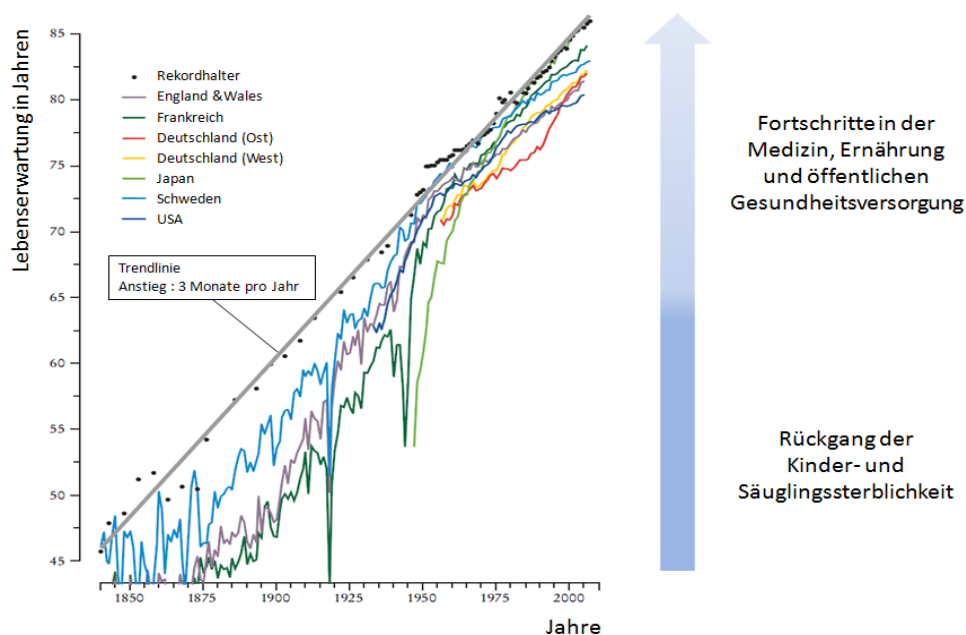


Abbildung 1-1: Anstieg der Lebenserwartung von Frauen in den westlichen Industrienationen im Vergleich zum jeweiligen rekordhaltenden Land von 1840-2007. Quelle: modifiziert nach Schwentker und Vaupel (2011)

Vor 1950 ist der Anstieg der Lebenserwartung v.a. durch den Rückgang der Kinder- und Säuglingssterblichkeit begründet, während in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts Fortschritte in der Medizin, Ernährungsversorgung, Hygiene und der öffentlichen Gesundheitsversorgung maßgeblich dazu beigetragen haben, dass immer mehr Menschen ab einem Alter von 65 Jahren eine weitere Zunahme der Lebensspanne erfahren (Oeppen and Vaupel, 2002; Vaupel, 1997). Vor dem Hintergrund einer zunehmend alternden Bevölkerung ist der Erhalt der körperlichen und geistigen Gesundheit für viele sozial-, wirtschafts-, und gesundheitswissenschaftliche Disziplinen von besonderem Interesse. Ziel ist es dabei, v.a. die Lebensqualität mit zunehmendem Alter aufrechtzuerhalten und die Anzahl der zu erwartenden gesunden Lebensjahre zu erhöhen. Obwohl die Anzahl der zu erwartenden gesunden Lebensjahre innerhalb der letzten 20 Jahre sowohl für Männer als auch Frauen angestiegen ist (WHO, 2012), erhöht sich zunehmend auch die Anzahl ungesunder Lebensjahre aufgrund des relativ schnellen Anstiegs der Lebenserwartung (Murray et al., 2013; Noale et al., 2012).

1.1.2 Determinanten und Besonderheiten des Phänotyps Langlebigkeit

Langlebige Individuen (LLI) scheinen trotz des hohen Lebensalters einer Zunahme ungesunder Lebensjahre zu entgehen (Evert et al., 2003). LLI eignen sich daher als besonderes Modell für gesundes Altern, da diese oft in der Lage sind, der Entstehung altersbedingter Erkrankungen wie z.B. Alzheimer, Typ-2-Diabetes und Herz-Kreislaufkrankungen weitestgehend zu entgehen und den individuellen Gesundheitszustand trotz Erhöhung der Lebensdauer aufrechtzuerhalten (Engberg et al., 2009; Evert et al., 2003; Franceschi and Bonafe, 2003; Hitt et al., 1999; Schoenhofen et al., 2006; Willcox et al., 2008a; Willcox et al., 2008b). Das Lebensende tritt meist plötzlich und ohne vorherige andauernde Krankheitsphase ein (Andersen et al., 2012). Sowohl die körperlichen als auch die kognitiven Funktionen nehmen während der gesamten Lebenszeit nur in geringem Maß ab (Barral et al., 2012; Collino et al., 2013; Imhof et al., 2007). LLI sowie deren Nachkommen haben demzufolge eine hohe Anzahl gesunder Lebensjahre und zeigen eine Kompression der Morbidität und Anzeichen altersbedingter Erkrankungen erst kurz vor Lebensende (Andersen et al., 2012; Sebastiani and Perls, 2012; Sebastiani et al., 2013; Terry et al., 2004; Vaupel et al., 1998; Westendorp et al., 2009; Willcox et al., 2006). Die Kompression der Morbidität scheint bei langlebigen Männern noch stärker ausgeprägt zu sein, da Frauen im Vergleich zu den Männern zum einem zu einem früheren Zeitpunkt und zum anderen mehrere Anzeichen altersbedingter Erkrankungen zeigen (Evert et al., 2003; Fries et al., 2011). Geschlechtsspezifische Unterschiede äußern sich zudem dadurch, dass der genetische Effekt

in entzündungsrelevanten Genen v.a. bei Männern von Bedeutung zu sein scheint, während bei Frauen vermutlich in erster Linie Umweltfaktoren (z.B. Lebensstil, Ernährung) zum Phänotyp Langlebigkeit beitragen (Franceschi et al., 2000b; Lunetta and Murabito, 2012). Der Einfluss von Umweltfaktoren könnte möglicherweise geschlechtsspezifische Unterschiede in der zu erwartenden Lebensspanne erklären, da der größte Anteil von LLI, die ein Alter von mindestens 90 Jahren erreicht haben, durch Frauen repräsentiert wird (The Human Mortality Database, <http://www.mortality.org/>).

Bisher gibt es keine einheitliche Definition für Langlebigkeit beim Menschen. Ob eine Person im Vergleich zu den Personen der entsprechenden Geburtskohorte ein besonders hohes Lebensalter erreicht hat, kann jedoch mit Hilfe von Perzentilenkurven aufgezeigt werden. Nach Gudmundsson et al. (2000) gelten dabei Männer und Frauen, welche die 95ste Perzentile der Altersverteilung ihrer Geburtskohorte repräsentieren, als langlebig. Aufgrund der aktuellen und geschlechtsspezifischen Angaben zur Altersverteilung in den westlichen Industrienationen (Statistisches Bundesamt, 2013; WHO, 2012) werden Personen, die mindestens 90 oder 100 Jahre alt sind, als LLI bezeichnet und eingestuft (Conneely et al., 2012; Morris et al., 2014; Murabito et al., 2012; Nebel et al., 2005; Willcox et al., 2008a). Aufgrund des enormen Anstiegs der Lebenserwartung in den letzten Jahrzehnten, könnte sich das für LLI definierte Alter trotz länderspezifischer Unterschiede in der Lebenserwartung weiter erhöhen und Einfluss auf die zukünftige Auswahl der Studienpopulationen nehmen (Murabito et al., 2012).

Zwillings- und Familienstudien haben gezeigt, dass individuelle Unterschiede in der Lebensspanne bis zu ca. 30% auf genetische Faktoren zurückzuführen sind. So haben Geschwister und Kinder von LLI im Vergleich zu den Geschwistern und Kindern aus der Allgemeinbevölkerung eine höhere Wahrscheinlichkeit, ein Alter von mindestens 100 Jahren zu erreichen (Gudmundsson et al., 2000; Perls, 2002; Perls et al., 1998; Perls et al., 2002). Der genetische Effekt scheint dabei ab einem Alter von über 60 Jahren zuzunehmen (Hjelmborg et al., 2006), so dass der Anteil genetischer Faktoren, der zu Variationen in der Lebensspanne führt, nach dem 85. Lebensjahr sogar auf bis zu 40% ansteigen kann (Murabito et al., 2012). Im Vergleich zu den genetischen Faktoren haben Umwelteinflüsse (z.B. medizinische und öffentliche Gesundheitsversorgung, Ernährung, Stress, Umweltgifte) mit einem Anteil von ca. 70% einen relativ großen Effekt auf den Phänotyp Langlebigkeit (Finch and Tanzi, 1997; Herskind et al., 1996; Ljungquist et al., 1998; McGue et al., 1993; Skytthe et al., 2003). Neben den äußeren Umweltbedingungen und der Genetik spielen aber auch Unterschiede im Immunsystems und der Mikrobiota eine Rolle, die sich zudem gegenseitig beeinflussen

können (Garagnani et al., 2014; Nikolettou et al., 2014). Wahrscheinlich verfügen LLI über besondere genetische, immunologische oder metabolische Profile, die es ihnen ermöglichen eine hohe Anzahl gesunder Lebensjahre zu erzielen (Tabelle 1-1). Die zu erwartende Lebenserwartung wird somit von verschiedenen intrinsischen und extrinsischen Faktoren bestimmt, wodurch sich auch die Komplexität des Phänotyps Langlebigkeit zeigt.

Tabelle 1-1: Besonderheiten im Profil von langlebigen Individuen

Profil von LLI	Referenz
Genetisch	
<ul style="list-style-type: none"> gleiche Anzahl an Risikoallelen für altersbedingte Erkrankungen (z.B. Krebs, koronare Herzerkrankungen, Typ-2-Diabetes) im Vergleich zu jüngeren Kontrollen 	Beekman et al., 2010; Sebastiani et al., 2011
<ul style="list-style-type: none"> Unterschiede im Transkriptom-, mikroRNA- und DNA-Methylierungsprofil 	ElSharawy et al., 2012; Heyn et al., 2012; Lu et al., 2004
<ul style="list-style-type: none"> Korrelation von Telomerlänge der Leukozyten und Gesundheitszustand langlebiger Individuen 	Atzmon et al., 2010; Terry et al., 2008
<ul style="list-style-type: none"> Unterschiede in der Anzahl somatischer und vererbbarer Mutationen in der mitochondrialen DNA 	Giuliani et al., 2014; Rose et al., 2007; Salvioi et al., 2008; Zhang et al., 2003
Metabolisch	
<ul style="list-style-type: none"> hohe Insulinsensitivität 	Bucci et al., 2014; Paolisso et al., 2001; Wijsman et al., 2011
<ul style="list-style-type: none"> geringe Triglyzerid- und Cholesterin-Konzentrationen 	Barzilai et al., 2003; Heijmans et al., 2006; Vaarhorst et al., 2011
Immunologisch	
<ul style="list-style-type: none"> erhöhte Plasmawerte an pro-inflammatorischen Zytokinen (z.B. IL-6) sowie Erhöhung der Expression von anti-inflammatorischen Zytokinen (z.B. TGFβ1); möglicherweise Balance zwischen pro- und anti-inflammatorischer Immunantwort 	Baggio et al., 1998; Carrieri et al., 2004; Franceschi et al., 2000b; Franceschi et al., 2007; Franceschi und Bonafe, 2003; Lio et al., 2002
<ul style="list-style-type: none"> geringe Konzentration an organspezifischen Autoantikörpern im Plasma; erhöhte Konzentrationen an nicht-organspezifischen Autoantikörpern 	Andersen-Ranberg et al., 2004; Candore et al., 1997; Magri et al., 2002; Mariotti et al., 1992
<ul style="list-style-type: none"> Aufrechterhaltung von T- und B-Zellpopulationen trotz der altersbedingten Abnahme des T- und B-Zellpools 	Bucci et al., 2014; Colonna-Romano et al., 2010; Cossarizza et al., 1996; Derhovanessian et al., 2010; Franceschi et al., 1996; Remondini et al., 2010; Strindhall et al., 2007
<ul style="list-style-type: none"> erhöhte Anzahl und Aktivität natürlicher Killerzellen und neutrophiler Granulozyten, geringe Akkumulation von T-Gedächtniszellen 	Derhovanessian et al., 2010; Miyaji et al., 2000
Mikrobiell	
<ul style="list-style-type: none"> veränderte Zusammensetzung und Diversität der Mikrobiota bei gleichzeitiger Erhöhung pro-inflammatorischer Marker (z.B. IL-6, IL-8) 	Biagi et al., 2010; Baggio et al., 1998
Kognitiv	
<ul style="list-style-type: none"> geringe Prävalenz kognitiver Einschränkungen 	Barral et al., 2012; Imhof et al., 2007

1.1.3 Zusammenhang zwischen Entzündungen und Langlebigkeit

LLI verfügen möglicherweise über protektive Mechanismen und eine effektive Immunantwort, um altersbedingten zellulären Schädigungen und Funktionsverlusten der spezifischen und unspezifischen Immunantwort (Immunoseneszenz) nach der Reproduktionsphase entgegenzuwirken (d'Alessio et al., 2013). Altersbedingte Erkrankungen wie z.B. Alzheimer, Typ-2-Diabetes und Herz-Kreislaufkrankungen gehen meist mit einer übermäßigen Ausschüttung pro-inflammatorisch wirksamer Zytokine einher (Gomez et al., 2005; Howcroft et al., 2013). Die Folge sind chronische Entzündungsreaktionen, die verstärkt zu zellulären und gewebsspezifischen Schädigungen sowie Funktionsverlusten führen können (Giunta, 2008). Diese mit zunehmendem Alter eintretenden Modifikationen in der Zytokinausschüttung (Entzündungsaltern; engl. *inflammaging*) wirken sich v.a. nach der Reproduktionsphase nachteilig auf die Lebenserwartung aus (Franceschi et al., 2007).

Vor der Reproduktionsphase ist die verstärkte Ausschüttung von pro-inflammatorischen Zytokinen unerlässlich für eine effektive Immunantwort und somit von Vorteil für das Überleben (Candore et al., 2006a). Aufgrund der stetig steigenden Lebenserwartung und der damit verbundenen gesteigerten Exposition gegenüber Antigenen, können diese Mechanismen im hohen Alter zu einer Manifestation akuter und chronischer Entzündungsreaktionen führen (Franceschi et al., 2000a; Vasto et al., 2007). Die protektiven immunvermittelten Prozesse vor der Reproduktionsphase und die nachteiligen Effekte, die nach der Reproduktionsphase zum Tragen kommen, wurden erstmals 1957 beschrieben und werden auch unter dem Begriff der antagonistischen Pleiotropie zusammengefasst (Williams, 1957).

Es wird vermutet, dass bei LLI verstärkt anti-inflammatorische Mediatoren aktiv sind, die einer Erhöhung pro-inflammatorischer Immunantworten mit zunehmendem Alter entgegenwirken (Franceschi et al., 2007; Ostan et al., 2008). Genetische Effekte, die zu einer Aufrechterhaltung anti-inflammatorischer Aktivitäten beitragen, scheinen dabei v.a. bei Männern von Bedeutung zu sein (Franceschi et al., 2000b). Bei Frauen haben genetische Varianten in Genen, die für pro- und anti-inflammatorische Zytokine kodieren, vermutlich keinen Einfluss auf die Zytokin-Serumkonzentrationen und -aktivitäten (Bonafe et al., 2001; Candore et al., 2006b; Franceschi et al., 2007; Lio et al., 2002).

1.2 Genetische Aspekte der Langlebigkeit

1.2.1 Genetische Befunde bei Modellorganismen

Eine Vielzahl von Genen, die einen Einfluss auf die Lebenserwartung zeigen, konnten bereits in Modellorganismen beschrieben werden (Kuningas et al., 2008). Es wurden bereits mehrere hundert Gene identifiziert, die zu einer Verlängerung der Lebensspanne in *Saccharomyces cerevisiae* (Kaeberlein et al., 1999; Kaeberlein et al., 2005), *Caenorhabditis elegans* (Friedman and Johnson, 1988; Kenyon, 2005; Kimura et al., 1997; Lin et al., 1997; Torgovnick et al., 2013), *Drosophila melanogaster* (Aigaki et al., 2002; Clancy et al., 2001) und Mausmodellen (Bartke, 2005; Ladiges et al., 2009) geführt haben. In Kombination mit bestimmten Umweltfaktoren, wie z.B. kalorischer Restriktion, konnte die Lebensdauer zusätzlich erhöht werden (Kaeberlein et al., 2004; Lakowski and Hekimi, 1998; Lin et al., 2000; Walker et al., 2005). Diese Studien lassen einen Zusammenhang zwischen Nährstoffaufnahme und Langlebigkeit vermuten. Gestützt wird diese Hypothese dadurch, dass die beschriebenen genetischen Determinanten in Modellorganismen in zentralen Stoffwechselwegen von Bedeutung sind, die zwischen den verschiedenen Spezies z.T. hochkonserviert sind. Dazu zählt u.a. der Insulin-IGF1 (engl. *insulinlike growth factor 1*, IGF1)-Signalweg.

Genetische Untersuchungen des Insulin-IGF1-Signalwegs haben gezeigt, dass dieser maßgeblich an der Regulation der Lebensspanne in verschiedenen Organismen beteiligt ist (Kenyon, 2010; van Heemst, 2010). Hierbei scheint das *Forkhead-Box-Protein O3* (*FOXO3A*) als zentraler Regulator lebensverlängernder Mechanismen zu fungieren. So konnte z.B. in *Caenorhabditis elegans* erstmals gezeigt werden, dass genetische Varianten des orthologen *daf-16*-Gens sogar zu einer Verdopplung der Lebensdauer führen (Kwon et al., 2010; Libina et al., 2003; Lin et al., 1997; Lin et al., 2001). Dies kann u.a. in der durch diesen Transkriptionsfaktor gesteigerten Expression von Genen begründet sein, die bei der zellulären Stressantwort, antioxidativen Abwehrmechanismen und der DNA-Reparatur eine Rolle spielen (Gems and McElwee, 2003; Hyun et al., 2008; Kenyon, 2005; Murphy et al., 2003). Bedeutende Erkenntnisse über *FOXO3A*-vermittelte Mechanismen konnten ebenfalls durch Studien am Süßwasserpolypen *Hydra vulgaris* gewonnen werden: Der Erhalt der Stammzellen und die Aufrechterhaltung der Immunsystems scheinen dabei u.a. ursächlich zu sein für die scheinbar unbegrenzte Lebensdauer dieses Polypen (Boehm et al., 2012; Bridge et al., 2010).

1.2.2 Genetische Befunde beim Menschen

Im Vergleich zu den Befunden bei Modellorganismen gibt es beim Menschen nur sehr wenige gesicherte Befunde. Bisher konnten lediglich genetische Varianten in zwei Genen in verschiedenen Populationen identifiziert werden, die für Langlebigkeit prädisponieren: dabei handelt es sich um das *Apolipoprotein E (APOE)* und das *Forkhead-Box-Protein O3 (FOXO3A)* (Blanche et al., 2001; Deelen et al., 2011; Flachsbart et al., 2009; Li et al., 2009c; Nebel et al., 2011; Pawlikowska et al., 2009; Schachter et al., 1994; Soerensen et al., 2010; Soerensen et al., 2013; Willcox et al., 2008a). *APOE* und *FOXO3A* wurden erstmals über hypothesenbasierte Kandidatengenstudien im Rahmen von Assoziationsstudien als Langlebigkeitsgene identifiziert (Flachsbart et al., 2009; Schachter et al., 1994; Willcox et al., 2008a). Genomweite Assoziationsstudien (GWAS) konnten über einen hypothesenfreien Ansatz trotz der Vielzahl an getesteten genetischen Varianten lediglich genomweit signifikante Assoziationssignale von $p \leq 10 \times 10^{-8}$ für *APOE* aufzeigen (Deelen et al., 2013b; Deelen et al., 2011; Nebel et al., 2011; Sebastiani et al., 2010). Im Rahmen einer kürzlich veröffentlichten Meta-Analyse von Deelen et al. (2014) wurde neben dem *APOE*-Locus ein weiterer Suszeptibilitätsfaktor mit genomweiter Signifikanz für Langlebigkeit auf Chromosom 5q33.3 identifiziert (Deelen et al., 2014) (Tabelle 1-2).

APOE spielt eine Rolle im Lipidstoffwechsel und Cholesterintransport und stellt einen Mortalitätsfaktor dar, da die funktionell relevante Genvariante *APOE4* das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (Eichner et al., 2002; Haan and Mayeda, 2010; Khan et al., 2013), Alzheimer (Ashford, 2004; Kardaun et al., 2000) und Typ-2-Diabetes (Peila et al., 2002) erhöht. Im Vergleich zu jüngeren Kontrollen ist die Allelfrequenz dieser Genvariante in LLI deutlich geringer (Blanchè et al., 2001; Deelen et al., 2011; Nebel et al., 2005; Schachter et al., 1994; Soerensen et al., 2013). Zunächst wurde vermutet, dass LLI verhältnismäßig wenig Genvarianten tragen, die sich nachteilig auf die Gesundheit auswirken (Brooks-Wilson, 2013). Im Vergleich zu jüngeren Kontrollgruppen konnte jedoch gezeigt werden, dass LLI die gleiche Anzahl solch gesundheitsschädlicher Varianten in der genomischen DNA aufweisen (Beekman et al., 2010; Mooijaart et al., 2011; Sebastiani et al., 2011; Sebastiani et al., 2012). Das bedeutet, dass eine Vielzahl von protektiven Genvarianten von LLI möglicherweise dazu beiträgt, den gesundheitsschädlichen Effekten von Risikovarianten entgegenzuwirken (Bergman et al., 2007). Weitere genetische Befunde von LLI wurde über die Gesamt-Genom-Sequenzierung von langlebigen Zwillingspaaren und Zwillingspaaren mittleren Alters gewonnen (Ye et al., 2013). Die Gesamt-Genom-Sequenzierung mittels zwei verschiedener

Next Generation Sequencing (NGS) Technologien von zwei monozygotischen Zwillingspaaren, deren Alter jeweils bei 40 und 100 Jahren lag, hat gezeigt, dass lediglich acht somatische Mutationen im Blut des langlebigen Zwillingspaars detektiert wurden (Ye et al., 2013). Eine Akkumulation von somatischen Mutationen im hohen Alter scheint dabei jedoch nicht ursächlich zu sein für Langlebigkeit beim Menschen. Es wird vermutet, dass die Bildung von Leukozyten der myeloischen und lymphatischen Reihe auf wenige hämatopoetische Vorläuferzellen zurück geht, die im hohen Alter weiterhin aktiv sind (Holstege et al., 2014).

Aufgrund der geringen Effektstärke (engl. *odds ratios*, OR) genetischer Varianten und dem starken Einfluss von Umweltfaktoren, erweist es sich oftmals als große Herausforderung, genetische Faktoren zu identifizieren, die für Langlebigkeit beim Menschen prädisponieren. Hinsichtlich genetischer Einflussgrößen wird vermutet, dass viele verschiedene Gene mit geringen Effekten zusammenwirken (Brooks-Wilson, 2013; Christensen et al., 2006). Dabei ist umstritten, ob entweder häufige oder seltene Varianten relevant sind, um den Phänotyp der Langlebigkeit erklären zu können. Nach der *common disease- common variant-* Hypothese wird angenommen, dass eine relativ geringe Anzahl an häufigen Genvarianten mit geringen Effekten eher für komplexe Phänotypen prädisponieren, während nach der *rare variant-* Hypothese hingegen vermutet wird, dass eine Vielzahl seltener Varianten mit stärkeren Effekten eine Rolle spielen (Becker, 2004; Schork et al., 2009). Bisher konnten die genetischen Grundlagen zur Aufklärung dieser zwei Hypothesen über komplexe Phänotypen noch nicht vollständig entschlüsselt werden. Es liegt jedoch nahe, dass eine Kombination von vielen häufigen und seltenen Varianten mit geringen bis moderaten Effekten sowie Umweltfaktoren und epigenetische Veränderungen den Phänotyp Langlebigkeit charakterisieren (Gibson, 2011; Sebastiani et al., 2011).

Tabelle 1-2: Bisher identifizierte und bestätigte Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen

Gen/ Region	Effektgrößen (OR)*	Studiendesign	Referenz
<i>APOE</i>	>2	GWAS, Kandidatengenstudie	Blanche et al., 2001; Deelen et al., 2014; Deelen et al., 2011; Nebel et al., 2011; Schachter et al., 1994; Soerensen et al., 2013
<i>FOXO3A</i>	~1,4	Kandidatengenstudie	Flachsbar et al., 2009; Li et al., 2009c; Pawlikowska et al., 2009; Soerensen et al., 2010; Willcox et al., 2008a;
5q33.3	~1,1	GWAS	Deelen et al., 2014

* OR= Odds Ratio

1.3 Strategien zur Identifizierung von genetischen Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen

1.3.1 Untersuchung von funktionell relevanten Einzelbasenvariationen

Für die Identifizierung von Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen werden v.a. sogenannte Einzelbasenvariationen (engl. *single nucleotide variants*, SNVs) untersucht, die einen Basenaustausch innerhalb der DNA-Sequenz repräsentieren und dabei als genetische Marker für einen (oder auch mehrere) Phänotyp(en) fungieren können (Bader, 2001; Gray et al., 2000). SNVs stellen mit ca. 90% die häufigste Form der genetischen Variation dar (Abecasis et al., 2012; Collins et al., 1998). Sind SNVs in regulatorischen Elementen lokalisiert, kann dies zu Modifikationen im Transkriptions- und Translationsprozess führen (Bernstein et al., 2012; Maston et al., 2006) (Abbildung 1-2). Im Rahmen des ENCODE-Projekts wurden bereits zahlreiche regulatorische Elemente v.a. in nicht-kodierenden DNA-Sequenzen identifiziert, die in über 80% des menschlichen Genoms zu finden sind (Bernstein et al., 2012; Soon et al., 2013). Die regulatorischen Bereiche können dabei sowohl innerhalb als auch außerhalb der Genregion liegen. SNVs in kodierenden Bereichen sind dabei von besonderer funktioneller Relevanz, da diese Einfluss haben auf die Proteinfunktion, -menge und -lokalisation (Olivier, 2004). Intronische SNV in Spleißstellen können zur Bildung verschiedener mRNA- und Proteinprodukte führen (Yang et al., 2009).

Innerhalb und außerhalb der Genregion können zusätzliche regulatorische Elemente wie z.B. Enhancer, Transkriptionsfaktor-Bindestellen sowie mikroRNA-Bindestellen lokalisiert sein, die Einfluss auf die Transkription nehmen (Chen and Rajewsky, 2007; Maston et al., 2006). Es wurde z.B. gezeigt, dass phänotyp-assoziierte SNVs v.a. in Transkriptionsfaktor-Bindestellen sowie in zell- und gewebespezifischen DNase-I-hypersensitiven Stellen lokalisiert sind (Bernstein et al., 2012; Maurano et al., 2012). Das könnte bedeuten, dass funktionell relevante SNVs auch in intronischen Regionen oder in DNA-Bereichen weit außerhalb der Genregion liegen. Genetische Untersuchungen von SNVs ermöglichen es somit, die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen in Abhängigkeit von Zell- und Gewebespezifität zu identifizieren, die möglicherweise für den Phänotyp Langlebigkeit relevant sind (Chen et al., 2014; Guo and Jamison, 2005; Maston et al., 2006). Im Rahmen internationaler Forschungsprojekte (z.B. 1000-Genome-Projekt, HapMap-Konsortium) wurde ein Katalog von mehr als 10 Millionen SNVs und weiteren genetischen Varianten

publiziert (Buchanan et al., 2012). Seltene Varianten, die bisher unentdeckt geblieben sind und lediglich mittels Sequenzierungstechnologien detektiert werden können, lassen jedoch eine weitaus höhere Anzahl an SNVs in der genomischen DNA vermuten.

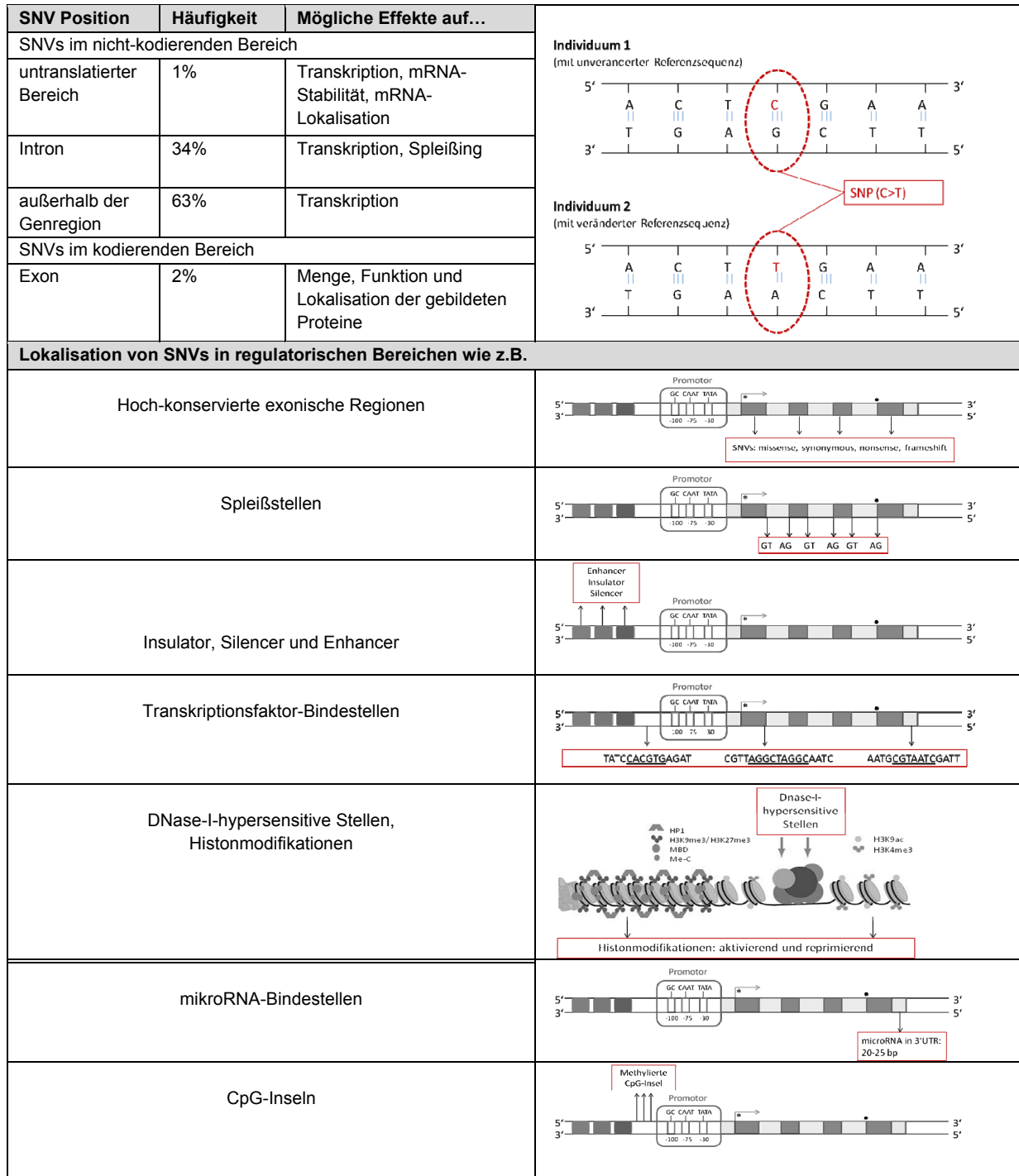


Abbildung 1-2: Bedeutung von SNVs in regulatorischen Bereichen für Transkriptions- und Translationsprozesse. Quelle: eigene Darstellung in Anlehnung an Koboldt (2012); Hardin et al. (2012); Riethoven (2010) und Twyman (2003)

1.3.2 Kandidatengenstudien

Für die Erforschung von komplexen Phänotypen eignen sich v.a. Kandidatengenstudien, da die Effektgrößen einzelner Genvarianten meist gering sind und so mehr assoziierte SNVs identifiziert werden können als durch hypothesenfreie GWAS, in denen Millionen von SNVs gleichzeitig getestet werden (Bush and Moore, 2012). Im Rahmen von hypothesenbasierten Kandidatengenstudien konnten neben *APOE* und *FOXO3A* zahlreiche weitere Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen beschrieben werden (Christensen et al., 2006; Deelen et al., 2013a). Diese Suszeptibilitätsfaktoren wurden sowohl in der genomischen als auch in der mitochondrialen DNA identifiziert (de Benedictis et al., 2000; Tanaka et al., 1998) und spielen u.a. eine Rolle beim DNA-Metabolismus, antioxidativen Schutzmechanismen, der Immunabwehr sowie beim Lipid- und Kohlenhydratstoffwechsel (Brooks-Wilson, 2013; Christensen et al., 2006; Deelen et al., 2013a). Allerdings scheint die Vielzahl dieser Befunde populationsspezifisch zu sein (Dato et al., 2004) oder es handelt sich möglicherweise um falsch-positive Befunde (Deelen et al., 2013a). Dies kann z.B. darauf beruhen, dass innerhalb der Kontroll- und Fallstichprobe verschiedene Populationen oder Ethnizitäten untersucht werden, die einen möglichen Effekt vortäuschen können, der aber nicht auf den Phänotyp Langlebigkeit verweist (Reich and Goldstein, 2001). Um diese falsch-positiven Befunde zu minimieren, ist es notwendig die gefundenen Assoziationen in unabhängigen Stichproben zu replizieren.

1.3.2.1 Genetische Untersuchungen der Superoxiddismutasen

Superoxiddismutasen (SODs) sind Enzyme, welche die Umwandlung von Superoxiden bzw. reaktiven Sauerstoffspezies (engl. *reactive oxygen species*, ROS) zu Wasserstoffperoxid katalysieren, das im Folgenden zu Wasser und Sauerstoff umgesetzt wird. Sie repräsentieren somit ein endogenes antioxidatives Abwehrsystem, das in allen Körperzellen wirksam ist und diese vor ROS bzw. freien Radikalen schützt (Buettner, 2011; Nozik-Grayck et al., 2005). Eine erhöhte zelluläre Konzentration an ROS kann das Auftreten von Entzündungsreaktionen begünstigen (Khansari et al., 2009; Reuter et al., 2010). So wird eine Akkumulation von ROS in verschiedenen Studien als Risikofaktor für altersbedingte Entzündungserkrankungen beschrieben (Benzi and Moretti, 1995; Bokov et al., 2004; Kaneto et al., 2010; Lassegue and Griendling, 2004; Morrell, 2008). Allerdings können moderate Konzentration an ROS auch protektive Effekte induzieren, die einen Einfluss auf die Lebensspanne haben könnten (Rattan, 2010; Rattan and Demirovic, 2009; Ristow and Zarse, 2010). Diese protektiven

Effekte können darauf beruhen, dass ROS eine zentrale Rolle bei der Signalübertragung spielen. So konnte gezeigt werden, dass durch moderate Konzentrationen an freien Radikalen eine erhöhte Stressresistenz der Zellen erreicht wird (Heidler et al., 2010; Lee et al., 2010; Wang et al., 2007). Diese Effekte werden auch unter dem Begriff Hormesis zusammengefasst, da von ROS bei moderaten Konzentrationen auch protektive Wirkungen hervorgerufen werden (Rattan and Demirovic, 2009).

Beim Menschen wurden drei Gene beschrieben, die für SODs kodieren: *SOD1* (Kupfer und Zink enthaltende SOD im Zytoplasma), *SOD2* (Mangan enthaltende SOD im Mitochondrium) und *SOD3* (extrazelluläre SOD). Es wurde in einzelnen Populationen gezeigt, dass genetische Varianten in den drei *SOD*-Genen u.a. mit altersbedingten Erkrankungen (Caple et al., 2010; Charniot et al., 2011; Kakko et al., 2003; Shimoda-Matsubayashi et al., 1996; Soerensen et al., 2009; Tian et al., 2011; Wiener et al., 2007) und Langlebigkeit (Soerensen et al., 2009; Stessman et al., 2005) assoziiert sind. Die Assoziationsbefunde lassen sich vermutlich durch die antioxidativen Schutzmechanismen der SODs erklären, da erhöhter oxidativer Stress ein Risikofaktor für altersbedingte Entzündungserkrankungen darstellt (Khansari et al., 2009). Bei LLI wurden jedoch geringere SOD-Enzymaktivitäten gemessen im Vergleich zu jüngeren Kontrollen (Andersen et al., 1998; Mecocci et al., 2000). Dies könnte allerdings eine Folge von geringerem oxidativen Stress in LLI sein (Barbieri et al., 2003b; Paolisso et al., 1998).

1.3.2.2 Genetische Untersuchungen des Cholesterinester-Transferproteins

Das Cholesterinester-Transferprotein (CETP) ist ein Glykoprotein, das primär in der Leber gebildet wird und im Blut zirkuliert. Es spielt eine wesentliche Rolle beim Lipoprotein-Metabolismus und Cholesterin-Transport (Barter et al., 2003). Die Wirkmechanismen basieren hierbei auf der Modifikation von Lipoproteinen hinsichtlich deren Zusammensetzung und Konzentration. Die Modifikation resultiert daraus, dass CETP den Transfer von Cholesterinester (CE) und Triglyzeriden (TG) zwischen den einzelnen Lipoprotein-Fractionen vermittelt (Koivuniemi et al., 2012; Main et al., 1998; Qiu et al., 2007). Die einzelnen Lipoprotein-Fractionen werden nach ihrer Dichte klassifiziert, wodurch sich folgende Hauptklassen ergeben: Lipoproteine sehr geringer Dichte (engl. *very low-density lipoprotein*, VLDL), Lipoproteine geringer Dichte (engl. *low-density lipoprotein*, LDL) und Lipoproteine hoher Dichte (engl. *high-density lipoprotein*, HDL). Durch den Transport von CE und TG zwischen den einzelnen Lipoproteinen wirkt CETP sowohl pro- als auch anti-atherogen (Abbildung 1-3).

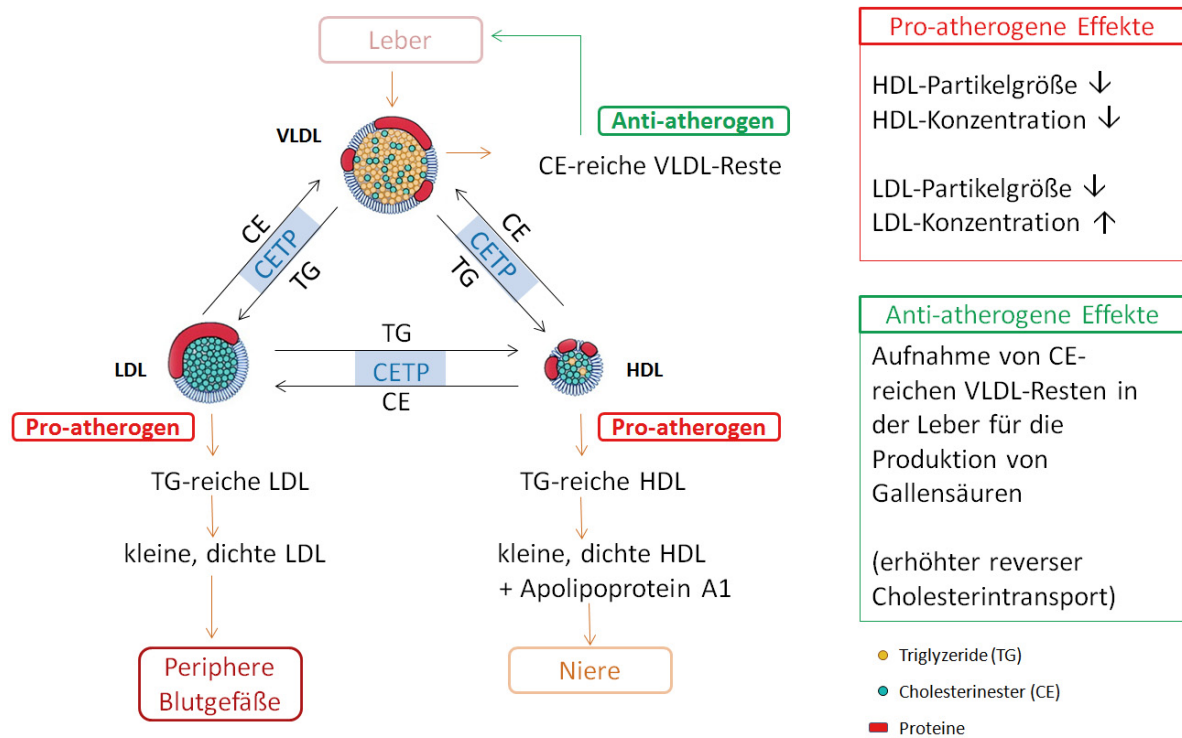


Abbildung 1-3: Pro- und anti-atherogene Effekte von CETP im Lipoprotein-Metabolismus. CETP vermittelt den Transport von Cholesterinester (CE) und Triglyzeriden (TG) zwischen den Lipoproteinen. Dadurch wird u.a. deren Konzentration, Zusammensetzung und Partikelgröße verändert, wobei sowohl pro- als auch anti-atherogene Effekte ausgelöst werden. Die Entstehung von CE-reichen VLDL-Resten wirkt u.a. anti-atherogen, da Cholesterin zur Leber transportiert und in Form von Gallensäuren ausgeschieden wird. Die Bildung von kleinen, dichten LDL und HDL wirkt hingegen pro-atherogen. Kleine, dichte LDL können das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen erhöhen, da diese anfällig sind gegenüber Oxidationen und die Bildung von Schaumzellen sowie das Entstehen von Entzündungsreaktionen in den betroffenen Blutgefäßen fördern. Kleine, dichte HDL werden schnell metabolisiert und können demnach für den reversen Cholesterintransport nicht genutzt werden. Dies ist auch dadurch bedingt, dass der Hauptbestandteil von HDL (Apolipoprotein A1) von den HDL-Partikeln dissoziiert und über die Niere renal filtriert wird. Quelle: eigene Darstellung in Anlehnung an Barter and Kastelein (2006); Barter et al. (2003)

Anti-atherogene Effekte resultieren daraus, dass CETP z.B. die Bildung von CE-reichen VLDLs einleitet (Barter et al., 2003; de Vries-van der Weij et al., 2009). Dadurch wird Cholesterin zurück zur Leber transportiert und für die Produktion von Gallensäuren genutzt. CETP spielt somit eine Rolle beim reversen Cholesterin-Transport, bei dem überschüssiges Cholesterin aus dem Gewebe über den Darm ausgeschieden wird. Pro-atherogene Effekte werden z.B. durch die Verringerung der HDL- und Erhöhung der LDL-Konzentrationen eingeleitet bei gleichzeitiger Verringerung der HDL- und LDL-Partikelgröße (Guerin et al., 2001; Packard, 2003; Rye et al., 1999; Tall, 1995). Diese pro-atherogenen Lipoprotein-Profile werden als Risikofaktor für altersbedingte Entzündungserkrankungen wie z.B. kardiovaskuläre Erkrankungen, Typ-2-Diabetes und Alzheimer beschrieben (Di Angelantonio

et al., 2009; Hager et al., 2009; Lamarche et al., 1997; Mureddu et al., 2012; Verges, 2009; Warren et al., 2012). Bei LLI sowie deren Nachkommen konnten hingegen protektive Lipidprofile gemessen werden, die mit einer Erhöhung der HDL- und Verringerung der LDL-Konzentrationen bei gleichzeitiger Erhöhung der HDL- und LDL-Partikelgröße einhergehen (Barzilai et al., 2001; Heijmans et al., 2006; Newman et al., 2011; Vaarhorst et al., 2011).

Protektive Lipidprofile könnten einen Einfluss auf die Lebensspanne haben und das Risiko für altersbedingte Entzündungserkrankungen verringern. Mehrere Studien haben gezeigt, dass genetische Varianten in *CETP* u.a. zu geringeren CETP-Serumkonzentrationen führen und folglich auch eine Erhöhung der HDL- und Verringerung der LDL-Konzentrationen bewirken bei gleichzeitiger Erhöhung der HDL- und LDL-Partikelgröße (Atzmon et al., 2005; Barzilai et al., 2003; Bruce et al., 1998; Chasman et al., 2008; Dumitrescu et al., 2011; Inazu et al., 1994; Kathiresan, 2012; Koropatnick et al., 2008; Saxena et al., 2007; Takeuchi et al., 2012; Willer et al., 2008). Dies könnte bedeuten, dass LLI genetische Varianten im *CETP*-Gen tragen, die zu einer verringerten *CETP*-Expression und entsprechenden protektiven Lipoprotein-Profilen führen. Im Rahmen von Kandidatengenstudien wurden bereits verschiedene genetische Varianten im *CETP*-Gen getestet, die in verschiedenen ethnischen Populationen signifikant mit Langlebigkeit assoziiert sind. Diese Assoziationsbefunde konnten in der dänischen Population (Soerensen et al., 2013), bei Aschkenazi-Juden (Atzmon et al., 2005; Barzilai et al., 2003) und US-Amerikanern japanischer Herkunft (Koropatnick et al., 2008) aufgezeigt werden. Die assoziierten genetischen Varianten sind hier allerdings je nach Studienpopulation in verschiedenen Genbereichen lokalisiert, d.h. bisher konnte die jeweils signifikante Assoziation der in diesen Studien getesteten SNVs ($P < 0,05$) nicht in den jeweils anderen Populationen bestätigt werden.

1.3.2.3 *FOXO3A*, ein bestätigtes Kandidatengen für Langlebigkeit

Die Gene, die für FOXO-Proteine kodieren, kommen in allen eukaryotischen Zellen vor und gehören zur Familie der Forkhead-Box-Proteine. Die Gemeinsamkeit der zu dieser Familie gehörigen Proteine liegt in der konservierten Forkhead-Bindedomäne, wodurch die Bindung an den DNA-Strang ermöglicht wird (Kaestner et al., 2000; Obsil and Obsilova, 2008). FOXO-Proteine agieren als Transkriptionsfaktoren und sind durch die Bindung an den DNA-Strang in der Lage, die Expression von Genen zu beeinflussen, die eine zentrale Rolle bei der Zelldifferenzierung und -proliferation, Apoptose, DNA-Reparatur, Glukosemetabolismus, Detoxifikation von reaktiven Sauerstoffspezies und der Kontrolle des Zellzyklus einnehmen

(Abbildung 1-4) (Burgering and Medema, 2003; Carter and Brunet, 2007; Furukawa-Hibi et al., 2005; Greer and Brunet, 2005; Hedrick et al., 2012; Lam et al., 2006; Nho and Hergert, 2014).

FOXO3A fungiert hierbei auch als entzündungsrelevantes Gen, da mögliche Dysregulationen dieser *FOXO3A*-vermittelten Mechanismen eine Rolle bei Entzündungserkrankungen spielen (Becker et al., 2010; Haanen and Vermes, 1995; Hwang et al., 2011; Jaiswal et al., 2000; Khansari et al., 2009; Pradhan, 2007; Reuter et al., 2010). Der Zusammenhang zwischen *FOXO3A* und dem Auftreten von Entzündungsreaktionen konnte zudem dadurch gezeigt werden, dass *FOXO3A* die Aktivitäten von Subpopulationen von Immunzellen reguliert, wodurch immunmedierte Abwehrmechanismen möglicherweise aufrechterhalten werden (Dejean et al., 2009; Jonsson et al., 2005). Die Regulation der zellulären Immunantwort durch *FOXO3A* geht dabei auch mit einer Hemmung von pro-inflammatorisch wirkenden Signalwegen einher, die normalerweise zu einer Erhöhung der Aktivitäten von Subpopulationen des Immunsystems führen (Lin et al., 2004; Peng, 2008). Die Korrelation von *FOXO3A* mit altersbedingten Entzündungserkrankungen wird dadurch bestärkt, dass genetische Varianten in *FOXO3A* vermutlich einen milden Verlauf von chronischen Entzündungskrankheiten wie Morbus Crohn und Rheuma bedingen (Lee et al., 2013).

Beim Menschen wurden bisher vier FOXO-Proteine identifiziert. Dazu gehören FOXO1, FOXO3A, FOXO4 und FOXO6 (Maiese et al., 2009). Charakteristisch für diese Proteine ist, dass sie am Insulin-IGF1-Signalweg beteiligt sind, der zwischen den verschiedenen Spezies hochkonserviert ist (Barbieri et al., 2003a). Die bedeutende Rolle des Insulin-IGF1-Signalwegs wird dadurch untermauert, dass Nachkommen von LLI eine höhere Insulin-Sensitivität aufweisen im Vergleich zu jüngeren Kontrollen (Wijsman et al., 2011). Im Gegensatz zu *FOXO1*, *FOXO4* und *FOXO6* konnte *FOXO3A* in mehreren ethnischen Populationen als Langlebigkeitsgen validiert werden. So wurde gezeigt, dass genetische Varianten in *FOXO3A* in Amerikanern japanischer Herkunft (Willcox et al., 2008a), Deutschen (Flachsbart et al., 2009), Südtalienern (Anselmi et al., 2009), Han-Chinesen (Li et al., 2009c), Aschkenazi-Juden (Pawlikowska et al., 2009) und Dänen (Soerensen et al., 2010) signifikant mit Langlebigkeit assoziiert sind. Diese Befunde lassen eine bedeutende Rolle von *FOXO3A* bei der Regulation der Lebensspanne vermuten. Da die hier beschriebenen und assoziierten SNVs jeweils lediglich in intronischen Bereichen oder Regionen außerhalb des *FOXO3A*-Gens identifiziert wurden, können genetische Untersuchungen der exonischen

Regionen und der regulatorischen Bereiche (z.B. Promotor) des *FOXO3A*-Gens bedeutende Hinweise auf die möglichen kausativen und funktionell relevanten Varianten liefern.

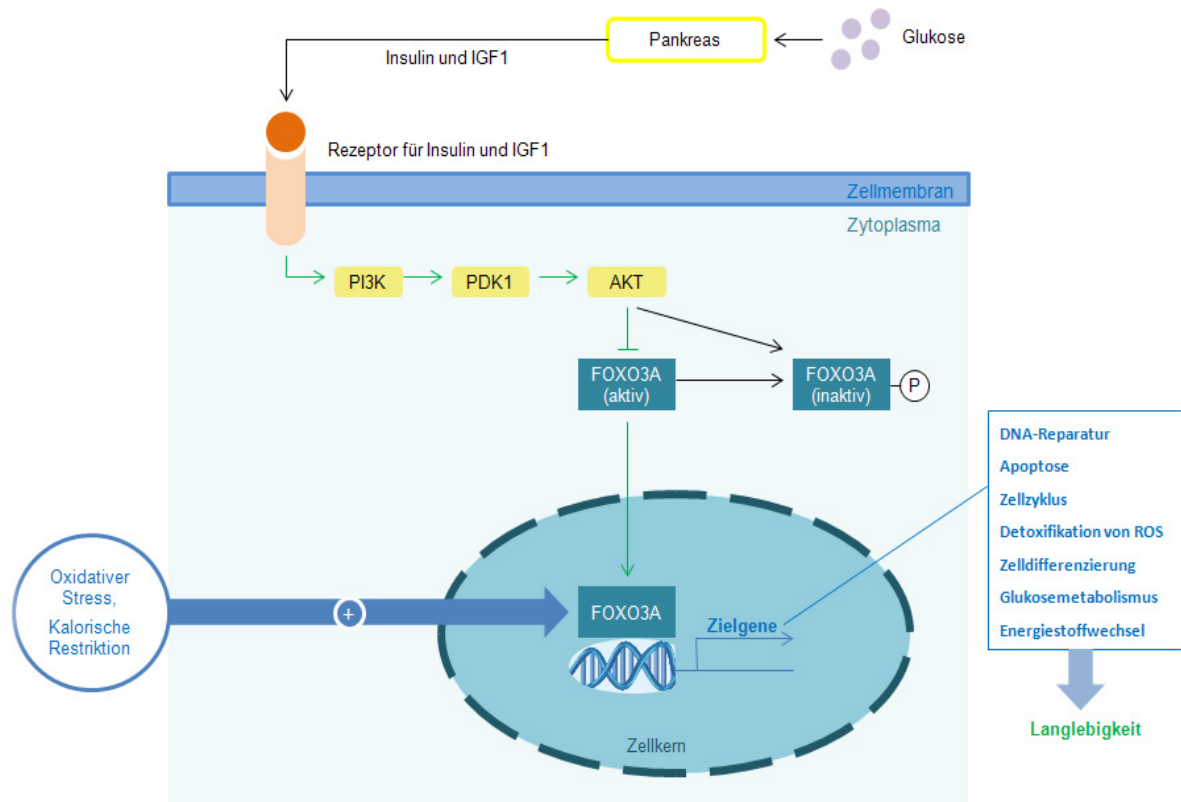


Abbildung 1-4: Regulation von *FOXO3A* durch den Insulin-IGF1-Signalweg. Hohe Glukose-Konzentrationen im Blut induzieren die Insulin- und IGF1-Bildung durch die Bauchspeicheldrüse (Pankreas). Durch die Bindung von Insulin und IGF an die entsprechenden Rezeptoren wird eine Signalkaskade über PI3K/PDK1/AKT ausgelöst. Dies führt dazu, dass aktives *FOXO3A* im Zytoplasma in die inaktive phosphorylierte Form überführt wird. Aktives *FOXO3A* kann an den DNA-Strang binden und die Expression verschiedener Zielgene beeinflussen, die an mehreren physiologischen und entzündungsrelevanten Prozessen beteiligt sind. Die Aktivität von *FOXO3A* wird u.a. durch oxidativen Stress und durch eine Verringerung der Nahrungsaufnahme (kalorische Restriktion) erhöht. PI3K= *Phosphatidylinositol-3-Kinase*; PDK1= *3-Phosphoinositid-abhängige Proteinkinase 1*; AKT= *Proteinkinase B*. Quelle: eigene Darstellung in Anlehnung an Carter und Brunet (2007) sowie Salih und Brunet (2008)

1.4 Ziele der Arbeit

Aufgrund der bisherigen Kandidatengen-Befunde und der Möglichkeit mittels SNV-Chip-Genotypisierung neue Suszeptibilitätsloci für Langlebigkeit zu identifizieren, ergeben sich verschiedene Zielsetzungen und Strategien (Abbildung 1-5):

- Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollen mögliche funktionelle genetische Varianten (SNVs) in den entzündungsrelevanten Kandidatengen *FOXO3A*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3* und *CETP* identifiziert werden, die eine Assoziation mit Langlebigkeit beim Menschen in der deutschen Population zeigen (Strategie A).

Genetische Untersuchungen von *FOXO3A* erfolgen unter Anwendung von Sequenzierungstechnologien sowie verschiedener bioinformatischer Programme und Online-Datenbanken, während die SNV-Auswahl in der *SOD1*-, *SOD2*-, *SOD3*- und *CETP*-Genregion über einen umfassenden *haplotype tagging* Ansatz erfolgt. Im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie werden die ausgewählten seltenen und häufigen SNVs in den Kandidatengen *FOXO3A*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3* und *CETP* in den DNA-Proben von 1.612 LLI (≥ 95 Jahre) und 1.104 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre) genotypisiert und anschließend deren Allelfrequenzen zwischen LLI und jüngeren Kontrollen verglichen. Die SNV-Allele, die signifikant häufiger oder seltener in den LLI zu finden sind, zeigen eine Assoziation mit Langlebigkeit. Für diese assoziierten SNVs soll überprüft werden, ob die Befunde in den Kandidatengen *FOXO3A*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3* und *CETP* in einer unabhängigen Stichprobe repliziert werden können, um die gefundenen Assoziationsergebnisse zu validieren. Im Folgenden ist anhand von funktionellen Studien zu prüfen, ob die assoziierten genetischen Varianten im *FOXO3A*-Gen von funktioneller Relevanz sind. Dazu werden verschiedene *in silico* und *in vitro* Analysen durchgeführt.

- Neben der genetischen Untersuchung von den beschriebenen Kandidatengen sollen zusätzliche SNVs in bereits bekannten, aber auch neuen Suszeptibilitätsloci für immunvermittelte und altersbedingte Erkrankungen detektiert werden (Strategie B). Hierzu werden ca. 200.000 SNVs, die auf einem SNV-Chip (ImmunoChip) lokalisiert sind, in 1.463 LLI und 6.464 jüngeren Kontrollen getestet. Die SNVs, die eine signifikante Assoziation mit Langlebigkeit zeigen, werden ebenfalls für Replikationsstudien ausgewählt, um die detektierten Assoziationssignale zu validieren.

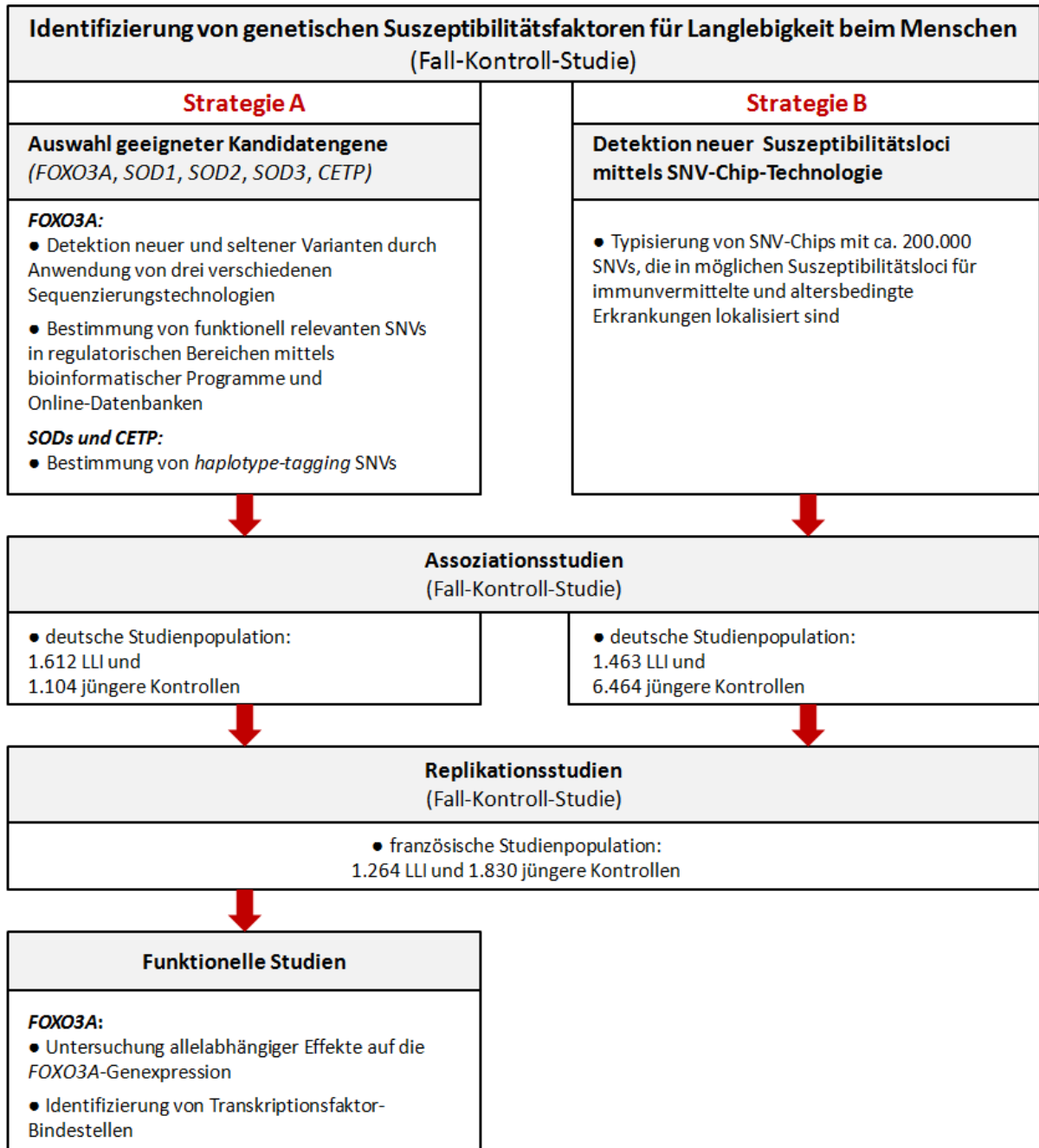


Abbildung 1-5: Strategien zur Identifizierung von funktionellen SNVs, die eine Assoziation mit Langlebigkeit beim Menschen zeigen. Quelle: eigene Darstellung

2 Material

2.1 Verwendete Kits, Enzyme und Chemikalien

Material	Anbieter
7-Deaza-GTP	Roche, Mannheim, Deutschland
Agarose	Biozym, Hessisch Oldendorf, Deutschland
BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
dNTPs	Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
Ethanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Exo I (Exonuklease I)	Fermentas, Vilnius, Litauen
FAP (Fast Alkaline Phosphatase)	Fermentas, Vilnius, Litauen
FuGENE® HD Transfection Reagent	Promega, Mannheim, Deutschland
GeneAmp High Fidelity 10x PCR Puffer	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
GeneAmp High Fidelity PCR System	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Gene-JET Plasmid Miniprep Kit	Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
Glycerin	Merck, Darmstadt, Deutschland
HyperLadder I 100 lanes	BioLine, Lübeck, Deutschland
Illustra GenomiPhi V2 Amplification Kit	GE Healthcare Life Sciences, Freiburg, Deutschland
Invisorb Blood Universal Kit	Stratec, Birkenfeld, Deutschland
iplex Gold Reagent Kit	Sequenom, Hamburg, Deutschland
iProof™ High-Fidelity DNA Polymerase Kit	Bio-Rad, München, Deutschland
Nhe I	Promega, Mannheim, Deutschland
Oligonukleotide	Metabion, Martinsried, Deutschland
Picogreen	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Platinum PCR Amplification Mix	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Pwo SuperYield DNA Polymerase	Roche, Mannheim, Deutschland
SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase)	Fermentas, Vilnius, Litauen
Seakem LE Agarose	Biozym, Hessisch Oldendorf, Deutschland
Sephadex-G-50 Superfine	GE Healthcare Buchler, Braunschweig, Deutschland
Spectro Chip II-G384	Sequenom, Hamburg, Deutschland
SYBR Safe DNA Gel Stain	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Taq DNA Polymerase	Qiagen, Hilden, Deutschland
TaqMan Gene Expression assay	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
TaqMan Genotyping Master Mix	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
TaqMan SNP Genotyping assays	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
TBE-Puffer	Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland
Trypsin-EDTA	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Xylene Cyanol FF	Sigma Aldrich, München, Deutschland

2.2 Primersequenzen

Gen (Region)	Primer	Sequenz 5'-3'	Amplikon
Long-range PCR (FOXO3A und FOXO3B)			
FOXO3A (Promotor, Exon1, Exon2)	F3_LR_34_MM2_F F3_LR_34_M02_R	GGCAGATTTGGCCAGATAAC CCCAACTGCAGGAAGTCATT	8407 bp
FOXO3A (Exon3)	FOX_ex3_LR_2F FOX_ex3_LR_2R	AAAGGTAGACGTTGTGCCTCTATACTA ACATGTAACACTGAAGATTGACAAAAG	2704 bp
FOXO3A (Exon4)	FOXO3A_3U_LR1F FOXO3A_3U_LR1R	CCATTCCCTTTGGGCTTTTC GGCCGTCTCTAAGTCCCAAC	5523 bp
FOXO3B	F3B_F3 F3B_R3	GTGGCCCAAAGAAAATGTGT TCTGCGTGACACTGGATTTT	8540 bp
Nested PCR (FOXO3A)			
FOXO3A (Promotor, NM201559)	ProFOX_201_F1 ProFOX_201_R1	CCCTTTTTCCCTCTCCTCTC TTACCCCGCTCCTACATTCA	690 bp
	ProFOX_201_F2 ProFOX_201_R2	CGCGAAACTCTCAATCAGGT GCCGCTTACTCGTCAAGG	722 bp
FOXO3A (Promotor, NM001455)	ProFOX_0014_F1 ProFOX_0014_R1	TGATGAACGTGCTGGTCCGGGT CAGGAACAGGAGGACCTGAA	766 bp
	ProFOX_0014_F2 ProFOX_0014_R2	GGAGGAGGAATGTGGAAGGT GGGTTTTGTGTTTGCAT	526 bp
	ProFOX_0014_F3 ProFOX_0014_R3	TCTAACAGGGAACCGGACAC CTCGCTTCCCTCCCTTCAG	729 bp
	ProFOX_0014_F4 ProFOX_0014_R4M_1R	GGGCACGGATCGTAGAATAA AGGGAGAAGGGGGAGCGG	602 bp
FOXO3A (Exon1)	FOX_ex1_F FOX_ex1_R	CTAGGTTGAGGCGCCCTG TTAAAAACACTAGCGGGCGA	386 bp
FOXO3A (Exon2)	FOX_ex2_a1_F1 FOX_ex2_a1_R1	AACATAAACAAACGCACGCA AGGGGCCACGTACAGGAT	633 bp
	FOX_ex2_a2_F4 FOX_ex2_a2_R2	GATGGCAGAGGCACCGGCT ACTCCGACGAATCCGAGAC	702 bp
FOXO3A (Exon3)	FOX_ex3_a1_F1 FOX_ex3_a1_R1	CTATATCATCTGGGTGCTCGG TTCAGTCAGCCCATCATTCA	600 bp
	FOX_ex3_a2_F2 FOX_ex3_a2_R2	CCATGCTCTACAGCAGCTCA GGACTCACTCAAGCCCATGT	653 bp
	FOX_ex3_a3_F3 FOX_ex3_a3_R3	ATCCGATGATGTCCTTTGCT ACCCTGCTCCATGGTTTTTC	636 bp
	FOXO3A_ex4_F001 FOXO3A_ex4_R001	GATGGAAGGCCTTGACAGGT AGGGGAAGGACGGTTAACAT	529 bp
	FOXO3A_ex4_F01 FOXO3A_ex4_R01	CGATGGTTTATGGGACGTTT CATTTGGCAATGAGTGGAGA	571 bp
	FOXO3A_ex4_P_F1 FOXO3A_ex4_R1	TTGCTTTGCAGAACAAATGAA CAAAGGTGGTCCCAACTATTCC	414 bp
	FOXO3A_ex4_F2 FOXO3A_ex4_R2	CTTTTTTTCTGCTTCTATGGATTTT TTCAGTAAAAGGCAGGGTGAA	606 bp
	FOXO3A_ex4_F3 FOXO3A_ex4_R3	TTGTGCGCCTTGGCTTTA TTTTGTTAGTCACTTTGCATGTTTC	601 bp
	FOXO3A_ex4_F4 FOXO3A_ex4_R4	GGATGCATTGCAGAGGCACTA CGGGACCCTAGACAGGCTTC	608 bp
	FOXO3A_ex4_F5 FOXO3A_ex4_R5R	TGAAGAGGGAATGCTTTGGTT GGTATCAGGTTCTGGAGCCC	603 bp
	FOXO3A_ex4_F6 FOXO3A_ex4_R6	CAGCTGTAATGTTTGATTTATGATGA TGGAGGACTTCTTTTTGACTGC	662 bp
	FOXO3A_ex4_F7 FOXO3A_ex4_R7	TGATTTTCAGGTGGCTTCCAAA GCATCCGCTTCAAGACCTCA	669 bp
	FOXO3A_ex4_F8 FOXO3A_ex4_R8	TATTTGGGTGAACATTGTATGATTAGG AGATTATATGGGATATGAGCAAGGA	652 bp
	FOXO3A_ex4_F9 FOXO3A_ex4_R9	TGAAGGAGGACCAGAAAAATTAGTTAAAGAG TCTCTCAGCTTTGTGGC	651 bp
	FOXO3A_ex4_F1La FOXO3A_ex4_R1La	CAAGTCTACGGGTGCCAGAT GCAAGGCTGAAAATAATCAAGG	358 bp

Gen (Region)	Primer	Sequenz 5'-3'	Amplikon
Endpoint PCR (SRF, FOXO3A, PDX1)			
SRF (NM_003131.2)	SRF_cDNA_for SRF_cDNA_rev	CTCAACTCGCCAGACTCTCC CCGGCTTCAGTGTGTCCTTG	142 bp
FOXO3A (NM001455.3)	FOXO3A_cDNA_for FOXO3A_cDNA_rev	GGCAAAGCAGACCCTCAAAC GCTCGAACCCGGAATGGTAA	504 bp
PDX1	PDX1_cDNA_for PDX1_cDNA_rev	CAGTGGGCAGGCGGC TCAACATGACAGCCAGCTCC	154 bp

2.3 Geräte

Gerät	Anbieter
3730 xl DNA-Analyzer	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
7900HT Fast Real-time PCR Systems	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Agilent Bravo	Agilent Technologies, Böblingen, Deutschland
Autopure LS	Qiagen, Hilden, Deutschland
Cellometer	PEQLAB, Elangen, Deutschland
Covaris S2 System	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Gradient PCR Thermal Cycler	Biometra, Göttingen, Deutschland
Illumina Genome Analyser	Illumina, San Diego, CA, USA
Illumina HiSeq2000	Illumina, San Diego, CA, USA
Illumina iScan	Illumina, San Diego, CA, USA
Infinite M200 Pro	Tecan, Crailsheim, Deutschland
MassARRAY Analyzer 4	Sequenom, Hamburg, Deutschland
MassARRAY Nanodispenser	Sequenom, Hamburg, Deutschland
Nanodrop®ND-1000 Spectrophotometer	Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
PCR System 9700	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
PowerPac Basic	Bio-Rad, München, Deutschland
Qiagen Roboter 8000	Qiagen, Hilden, Deutschland
Qiaxcel	Qiagen, Hilden, Deutschland
SOLiD™ 4 System	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Sub-Cell GT	Bio-Rad, München, Deutschland
Universal Hood II	Bio-Rad, München, Deutschland
ViiA™ 7 System	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland

2.4 Software, Tools und Datenbanken

Software	Webseite
BedTools package	https://code.google.com/p/bedtools/
BioEdit 7.0.5.3	http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html
COCAPHASE v2.404	https://sites.google.com/site/fdudbridge/software/unphased-2-404
dibayes	http://www.lifetechnologies.com
FamHap	http://famhap.meb.uni-bonn.de/
Genome Analysis Toolkit	http://www.broadinstitute.org/gatk/
Genome Analysis Toolkit CombineVariants	http://www.broadinstitute.org/gatk/
Haploview 4.2	http://www.broadinstitute.org
InSNP	http://www.mucosa.de/insnp/
novoSNP	http://www.molgen.ua.ac.be/bioinfo/novosnp/
PLINK 2.050	http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/
Primer Express 3.0	http://www.lifetechnologies.com
PS 3.0.43	http://biostat.mc.vanderbilt.edu/wiki/Main/PowerSampleSize
SAMtools	http://samtools.sourceforge.net/
SNPbrowser 4.0.1	http://www6.appliedbiosystems.com/europe/snpbrowser.cfm
SOLiD BioScope	http://www.lifetechnologies.com
Typer 4.0	http://bioscience.sequenom.com
Prediction tools	Webseite
MutPred	http://mutpred.mutdb.org/
PMut	http://mmb.pcb.ub.es/PMut/
PolyPhen-2	http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/
SIFT	http://sift.jcvi.org/
SNAP	https://www.roslab.org/services/snap/
SNPs&Go	http://snps-and-go.biocomp.unibo.it/snps-and-go/
sTRAP	http://trap.molgen.mpg.de/cgi-bin/trap_two_seq_form.cgi
Online-Datenbanken	Webseite
Blood eQTL browser	http://genenetwork.nl
Ensembl	www.ensembl.org/
FuncPred	http://snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm
Genecards	www.genecards.org/
Generic Genome Browser	http://eqtl.uchicago.edu/cgi-bin/gbrowse/eqtl/
Genomatix	https://www.genomatix.de/
Haploreg v2	www.broadinstitute.org/mammals/haploreg/
LocusZoom	http://csg.sph.umich.edu/locuszoom/
LongevityMap	http://genomics.senescence.info/longevity/
NCBI	www.ncbi.nlm.nih.gov/
Regulatory Elements Database	http://dnase.genome.duke.edu
RegulomeDB	http://regulome.stanford.edu/
SNAP	www.broadinstitute.org/mpg/snap/
SNPnexus	http://snp-nexus.org
UCSC	http://genome-euro.ucsc.edu/

3 Methoden

3.1 Deutsche Studienpopulation

Im Rahmen einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie wurden sowohl eine Fallstichprobe als auch eine Kontrollstichprobe verwendet, um die SNV-Allelfrequenzen zwischen diesen beiden Stichproben miteinander vergleichen zu können. Alle ausgewählten Probanden wurden seit dem Jahr 2000 in Deutschland rekrutiert. Die Kontaktdaten der Studienteilnehmer wurden über die jeweiligen Einwohnermeldeämter ermittelt. Mit schriftlichem Einverständnis der Probanden wurden diese gebeten, einen Fragebogen auszufüllen und Angaben zur Person, dem Gesundheitszustand und sozioökonomischen Status zu machen. Dieser Fragebogen wurde zuvor von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität (CAU) zu Kiel und den lokalen Datenschutzbeauftragten eingesehen und akzeptiert. Zur Untersuchung der Häufigkeiten von SNV-Allelen in den jeweiligen Stichproben wurden DNA-Proben aus dem Blut der Probanden gewonnen. Die Blutentnahme erfolgte über den dafür zuständigen Hausarzt. Es wurden nur Probanden in die Fall- und Kontrollstichprobe aufgenommen, die keine Anzeichen für chronische oder schwere Erkrankungen aufwiesen. Zum Zeitpunkt der Blutentnahme wurde das Alter aller Studienteilnehmer vermerkt und so die Zugehörigkeit eines Probanden zur Fall- oder Kontrollstichprobe bestimmt. Hierbei repräsentierten die Fälle und Kontrollen verschiedene Altersgruppen, die jeweils verschiedenen Geburtskohorten angehören. Zu beachten galt, dass Fall- und Kontrollstichprobe hinsichtlich Geschlecht, Ethnizität und regionaler Herkunft aufeinander abgestimmt waren, da diese Faktoren eine mögliche Störgröße darstellen und zu falsch-positiven Ergebnissen führen können (Mann, 2003; Nebel et al., 2005).

3.2 Auswahl der Fallstichprobe

Die Fallstichprobe für Kandidatengenstudien von *FOXO3A*, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3* und *CETP* (Strategie A) umfasste insgesamt 1.612 unverwandte Probanden, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme ein Alter von mindestens 95 Jahren erreicht haben (Tabelle 3-1). Die Altersspanne der Fallstichprobe lag zwischen 95 und 109 Jahren (Durchschnittsalter: 99 Jahre). Von den insgesamt 1.612 Studienteilnehmern waren 748 Probanden 100 Jahre oder älter (Durchschnittsalter: 103 Jahre). Ausgehend von 1.612 Probanden lag der Anteil der Frauen bei 73%, während 27% der Fallstichprobe Männer waren. Bei der hundertjährigen

Subpopulation mit 748 Probanden war der Anteil der Frauen etwas höher (80% Frauen vs. 20% Männer).

Die Fallstichprobe für die Detektion neuer Suszeptibilitätsloci mittels Immunochip-Technologie (Strategie B) umfasste insgesamt 1.463 unverwandte Probanden, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme ein Alter von mindestens 94 Jahren erreicht hatten (Tabelle 3-2). Die Altersspanne der Fallstichprobe lag dabei zwischen 94 und 110 Jahren (Durchschnittsalter: 99 Jahre). Ausgehend von 1.436 Probanden lag der Anteil der Frauen bei 73% (n=1.073), während 27% der Fallstichprobe Männer waren (n=390).

3.3 Auswahl der Kontrollstichprobe

Die Kontrollstichprobe für die Kandidatengenstudien (Strategie A) umfasste insgesamt 1.104 unverwandte Probanden, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme zwischen 60 und 75 Jahre alt waren (Durchschnittsalter: 67 Jahre). Die Altersspanne von 60 bis 75 Jahren wurde gewählt, da sich diese Geburtsjahrgänge nicht stark voneinander unterscheiden und dadurch auch die Lebensumstände als relativ ähnlich angesehen werden können. In der Kontrollstichprobe lag der Anteil der Frauen bei 74% und der Anteil der Männer bei 26%. Obwohl es innerhalb Deutschlands nur geringe genetische Unterschiede in der Populationsstruktur gibt (Steffens et al., 2006), waren Fall- und Kontrollstichprobe auch hinsichtlich der regionalen Herkunft aufeinander abgestimmt.

Für die Detektion neuer Suszeptibilitätsloci mittels Immunochip wurde eine Kontrollstichprobe von insgesamt 6.464 unverwandten Individuen genutzt (Durchschnittsalter: 57 Jahre). Bei der Kontrollstichprobe lag der Anteil der Frauen bei 50% und der Anteil der Männer bei 50% (Tabelle 3-2). Die Individuen der Kontrollstichprobe stammten von der Biobank PopGen (n=2.537) (Krawczak et al., 2006), der Forschungsplattform „Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg“ (KORA) (n=1.912) (Holle et al., 2005), der Charité-Universitätsmedizin Berlin sowie der Universität in Pittsburgh und der Ludwig-Maximilians-Universität in München (n=515). Weitere Probanden der Kontrollstichprobe wurden durch das Life & Brain Forschungszentrum in Bonn zur Verfügung gestellt (n=1.500).

Tabelle 3-1: Charakterisierung der Fall- und Kontrollstichprobe zur Detektion genetischer Varianten in den Kandidatengenegen *FOXO3A*, *SOD* und *CETP* (Strategie A)

	Anzahl der Probanden	Alter	Durchschnittsalter	Anteil von Männern und Frauen
Fallstichprobe	1.612	95-109 Jahre	99 Jahre	73% Frauen 27% Männer
	748	≥100 Jahre	101 Jahre	80% Frauen 20% Männer
Kontrollstichprobe	1.104	60-75 Jahre	67 Jahre	74% Frauen 26% Männer

Tabelle 3-2: Charakterisierung der Fall- und Kontrollstichprobe zur Detektion genetischer Varianten in möglichen neuen Suszeptibilitätsloci mittels SNV-Chip-Technologie (ImmunoChip)

	Anzahl der Probanden	Durchschnittsalter	Anteil von Männern und Frauen
Fallstichprobe	1.463	99 Jahre	73% Frauen 27% Männer
Kontrollstichprobe	6.464	57 Jahre	50% Frauen 50% Männer

3.4 Powerkalkulation

Vor der Durchführung einer Fall-Kontroll-Studie sollte überprüft werden, ob die Anzahl der Probanden, die jeweils zur Fall- und Kontrollstichprobe gehören, ausreichend ist, um eine vorhandene signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit tatsächlich detektieren zu können. Mit Hilfe der PS 3.0 Software (<http://biostat.mc.vanderbilt.edu/PowerSampleSize>) wurde dazu die statistische Power berechnet. Diese kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen und gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit eine vorhandene Assoziation bei vorgegebener Stichprobengröße tatsächlich detektiert werden kann. Um einen signifikanten Unterschied in den SNV-Allelfrequenzen zwischen der Fall- und Kontrollstichprobe finden zu können, sollte die statistische Power mindestens 80% betragen. Für die Powerberechnung wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ festgelegt und verschiedene Frequenzen für das seltene Allel (0,05; 0,1; 0,3 und 0,5) ausgewählt. Neben der errechneten Power für die jeweiligen Frequenzen des seltenen Allels werden zusätzlich die Odds Ratios angegeben (Abbildung 3-1). Diese werden auch als Quoten- oder Chancenverhältnis bezeichnet. Hierbei wird angegeben, um wie viel höher die „Chance“ ist, beim Vorhandensein eines bestimmten SNV-Allels den Phänotyp Langlebigkeit in der Gruppe der LLI auszuprägen im Vergleich zur jüngeren Kontrollgruppe. Im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie (Strategie A) kann mit einer Stichprobengröße von 1.612 LLI und 1.104 jüngeren Kontrollen z.B. bei einer Frequenz des seltenen Allels von 0.1 ein moderater Effekt (Odds Ratio=1.4) mit einer Power von 80% detektiert werden (Abbildung 3-1). Bei einer Stichprobengröße von 1.463 LLI und 6.464

jüngeren Kontrollen (Strategie B) kann ebenfalls bei einer Frequenz des seltenen Allels von 0.1 schon ein etwas geringerer Effekt (Odds Ratio=1.3) mit einer Power von 80% detektiert werden (Abbildung 3-1).

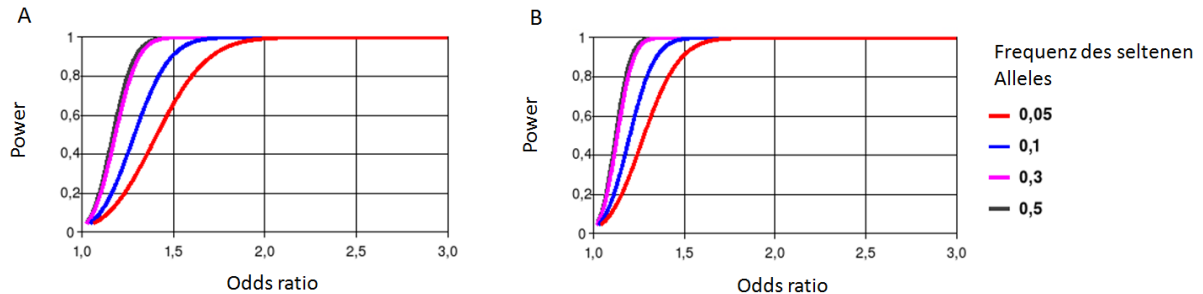


Abbildung 3-1: Powerberechnung mit 1.612 LLI und 1.104 jüngeren Kontrollen (A) sowie mit 1.463 LLI und 6.464 jüngeren Kontrollen (B) für verschiedene Frequenzen des seltenen Allels mittels PS 3.0 Software. Je geringer die Frequenz des seltenen Allels ist, desto größer sollte die Stichprobengröße sein, um moderate Effekte (Odds Ratios >1,3) mit einer Power von mindestens 80% detektieren zu können.

3.5 Replikation der Assoziationsbefunde in einer französischen Stichprobe

Für die Validierung der gefundenen Assoziationssignale war es notwendig, diese in einer unabhängigen Stichprobe zu replizieren. Dadurch können mögliche falsch-positive Ergebnisse weitestgehend minimiert werden und Hinweise auf die kausalen genetischen Varianten gegeben werden. Dazu wurde die DNA der Probanden aus Blutproben gewonnen und isoliert (Blanchè et al., 2001). Nach Zustimmung der jeweiligen zuständigen Ethikkommissionen zur Durchführung der Studie wurde vor Studienbeginn von den teilnehmenden Probanden eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt. Probanden-Rekrutierung, DNA-Extraktion und SNV-Genotypisierung erfolgte am Centre de Ressources Biologiques (Paris, Frankreich) durch Hélène Blanchè und Robert Olaso.

Zur französischen Fallstichprobe gehörten 1.264 LLI (Altersspanne: 90-115 Jahre), die hinsichtlich Geschlecht und regionaler Herkunft auf die Kontrollstichprobe abgestimmt waren. Die Kontrollstichprobe umfasste insgesamt 1.830 unverwandte Probanden (Altersspanne: 35-61 Jahre), die in verschiedenen Regionen Frankreichs geboren worden sind (Blanchè et al., 2001) oder zusätzlich an der französischen SU.IV.MAX-Studie teilgenommen hatten (engl. *Supplementation in Vitamins and Mineral Antioxidants Study*, SU.IV.MAX) (Hercberg et al., 2010). Der Frauenanteil in der Fallstichprobe lag bei 82% (n=1.032), während 18% Männer waren (n=232). Die Geschlechterverteilung in der Kontrollstichprobe zeigte ebenfalls einen höheren Frauenanteil (60% Frauen (n=1.105) vs. 40% Männer (n=725)).

3.6 Extraktion und Amplifikation genomischer DNA aus Vollblut

Die Extraktion genomischer DNA erfolgte aus EDTA-Blutproben der Probanden unter Anwendung des *Invisorb Blood Universal Kits* (Stratec) bei leicht abgewandeltem Standardprotokoll. Alle extrahierten genomischen DNA-Proben wurden anschließend zur Qualitätskontrolle auf einem Agarosegel aufgetragen und mittels *SYBR Safe* sichtbar gemacht. Die zuvor gewonnenen Blutproben wurden bei -80°C und die daraus gewonnene extrahierte DNA bei -20°C eingelagert. Die Extraktion genomischer DNA wurde im DNA-Labor des Instituts für Klinische Molekularbiologie (IKMB) in Kiel durchgeführt.

Die Rekrutierung von Probanden sowie die anschließende DNA-Extraktion aus dem Blut sind mit einem hohen Zeit- und Kostenaufwand verbunden. Daher wurde die extrahierte genomische DNA mittels Gesamtgenom-Amplifikation (engl. *whole genome amplification*, WGA) vervielfältigt, um sowohl Qualität als auch Quantität der humanen DNA-Proben zu gewährleisten und den hohen Bedarf an DNA für die Sequenzierung und Genotypisierung zu decken. Das Prinzip der WGA beruht auf einer isothermalen *Multiple Displacement Amplification* (MDA). Der Vorteil dieser Methode im Vergleich zur konventionellen PCR ist, dass nur geringe Mengen an genomischer DNA eingesetzt und relativ lange DNA-Sequenzen ca. 10.000-fach bis zu 100.000 Basenpaare bei einer geringeren Fehlerrate amplifiziert werden (Dean et al., 2002). Insgesamt wurde 1 µl an genomischer DNA mit einer Konzentration von 60 ng/µl eingesetzt. Nach der MDA wurden die amplifizierten DNA-Proben zur Qualitätskontrolle auf ein Agarosegel aufgetragen und mittels *SYBR Safe* sichtbar gemacht. Die MDA erfolgte entsprechend dem Herstellerprotokoll im DNA-Labor des IKMB in Kiel unter Anwendung des *Illustra GenomiPhi V2 DNA Amplification Kits* (GE Healthcare Life Sciences).

3.7 Generierung von *long-range* PCR-Produkten für *FOXO3A*-spezifische Genregionen

Genetische Untersuchungen von exonischen Bereichen des *FOXO3A*-Gens erforderten die Generierung von *FOXO3A*-spezifischen *long-range* PCR-Produkten, da ein Pseudogen (*FOXO3B*) auf Chromosom 17 beschrieben wurde (Flachsbart et al., 2013). Dieses Pseudogen weist eine starke Sequenzhomologie zu den exonischen Bereichen von *FOXO3A* auf Chromosom 6 auf. Etwa 99% der Basenabfolge in den exonischen Bereichen von *FOXO3A* stimmt mit der Basenabfolge von *FOXO3B* überein (Abbildung 3-2). Dadurch können die

Primer, die bei der Sequenzierung und der Genotypisierung eingesetzt werden, möglicherweise an die DNA-Sequenzen von *FOXO3B* binden und nicht an die Zielsequenzen von *FOXO3A*. Die Folge wäre, dass nicht nur *FOXO3A*- sondern auch *FOXO3B*-spezifische DNA-Sequenzen erfasst werden könnten.

Aufgrund der starken Sequenzhomologie der exonischen Bereiche von *FOXO3A* zum Pseudogen *FOXO3B* erwies es sich als Vorteil, dass die DNA-Sequenzen der intronischen Bereiche von *FOXO3A* nicht in der DNA-Sequenz von *FOXO3B* vorkommen. Bei der Generierung von *long-range* PCR-Produkten zur Amplifikation der Exons von *FOXO3A* wurde daher darauf geachtet, Primersequenzen auszuwählen, die lediglich in den intronischen Bereichen von *FOXO3A* binden. Dadurch können *FOXO3A*-spezifische DNA-Sequenzen amplifiziert und für die Sequenzierung und Genotypisierung genutzt werden. Die generierten *long-range* PCR-Produkte wurden zur Qualitätskontrolle anschließend auf einem Agarosegel aufgetragen und sichtbar gemacht. *Long-range* PCR-Produkte dienen im Folgenden als Ausgangsmaterial für die Herstellung von PCR-Produkten für die SOLiD-, Illumina, und Sanger-Sequenzierung und Genotypisierung.

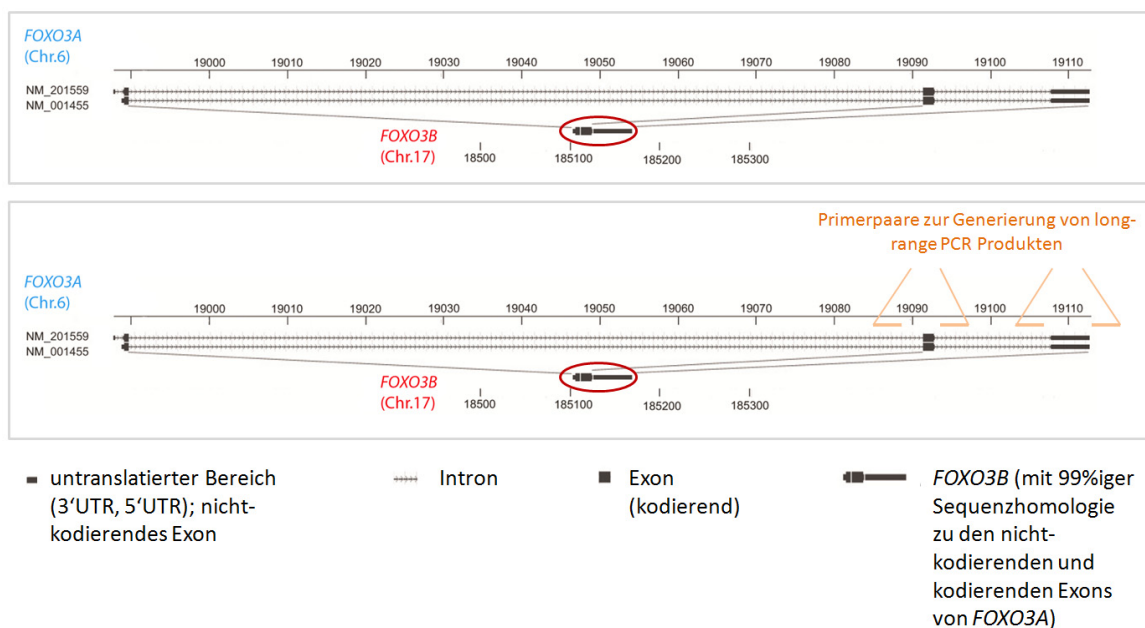


Abbildung 3-2: Darstellung der *FOXO3A*- und *FOXO3B*-Genstruktur. Für *FOXO3A*, das auf Chromosom 6 lokalisiert ist, wurden zwei Transkripte beschrieben (NM_201559 und NM_001455), wobei Transkript NM_201559 vier Exons und Transkript NM_001455 drei Exons umfasst. Die Exons in den beiden Transkripten sind jeweils sowohl kodierend als auch nicht-kodierend. Die nicht-kodierenden Exons fungieren dabei als 5'- und 3'UTR. Das Pseudogen *FOXO3B* ist auf Chromosom 17 lokalisiert und umfasst alle drei Exons von Transkript NM001455, wobei die intronischen Bereiche zwischen diesen drei Exons fehlen. Zu den drei exonischen Bereichen von *FOXO3A* weist *FOXO3B* eine 99%ige Sequenzhomologie auf. Die Primerpaare zur Generierung von *long-range* PCR-Produkten wurden in die intronischen Bereiche von *FOXO3A* gelegt, um *FOXO3A*-Spezifität bei der Sequenzierung und Genotypisierung zu gewährleisten. Quelle: eigene Darstellung, modifiziert nach Flachsbart et al. (2013)

3.8 Resequenzierung der gesamten *FOXO3A*-Genregion

Mittels DNA-Sequenzierung können sowohl häufige als auch seltene Varianten detektiert werden. Für eine effektive SNV-Auswahl wurden im Rahmen dieser Studie 450 DNA-Proben der Fall- und Kontrollstichprobe sequenziert. Die DNA-Resequenzierung erfolgte dabei für das gesamte *FOXO3A*-Gen mit besonderem Fokus auf potentiell regulatorische Bereiche (z.B. exonische Bereiche, Promotorregion) (Tabelle 3-3).

Tabelle 3-3: Strategien zur Resequenzierung der gesamten *FOXO3A*-Genregion in 232 LLI (≥ 100 Jahre) und 218 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre)

<i>FOXO3A</i> Resequenzierung	Sequenziermethode		
	Sanger (150 LLI, 150 jüngere Kontrollen)	SOLiD (34 LLI, 22 jüngere Kontrollen)	Illumina (48 LLI, 46 jüngere Kontrollen)
gesamte Genregion	-	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Promotor	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Exons	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Sequenziergerät	3730xl DNA-Analyzer	SOLiD v4	HiSeq 2000
Prinzip	Kettenabbruch- Methode	Sequenzierung durch Ligation	Sequenzierung durch Synthese
Genauigkeit	99,999%	99,94%	98%

3.8.1 DNA-Sequenzierung nach Sanger

Die DNA-Sequenzierung nach Sanger erfolgte für die exonischen Bereichen (Exon 1-4) und die Promotorbereiche des *FOXO3A*-Gens für 150 jüngere Kontrollen (60-75 Jahre) und 150 LLI, die ein Alter von ≥ 100 Jahren erreicht haben. Der Vorteil dieser Methode gegenüber Sequenzierungsmethoden der nächsten Generation ist die sehr genaue und zuverlässige Erfassung der Basenabfolge kurzer DNA-Abschnitte. Somit eignet sich diese Methode v.a. für die Identifizierung von seltenen Varianten. Für die DNA-Sequenzierung mit Sanger wurden zunächst die gewünschten DNA-Abschnitte des *FOXO3A*-Gens mittels PCR amplifiziert (Abbildung 3-3). Für DNA-Abschnitte mit hohem GC-Gehalt wurde zusätzlich ein 7-deaza-dNTP-Mix hinzugegeben, wodurch der Ausbildung von Sekundärstrukturen entgegengewirkt werden kann. Die amplifizierten PCR-Produkte wurden anschließend mit Exonuklease I (Exo I) und *Shrimp Alkaline Phosphatase* (SAP) (Fermentas) enzymatisch aufgereinigt, um überschüssige Primer und dNTPs zu entfernen. Danach erfolgte die Sequenzierungs-Reaktion mit dem *BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit* (Life Technologies). In diesem Kit sind die ddNTPs enthalten, die jeweils an einen bestimmten Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt sind und mit einem Detektor erkannt werden. Bei der Sequenzierungs-Reaktion wird im

Vergleich zur konventionellen PCR entweder nur der Vorwärts- oder der Rückwärtsprimer eingesetzt und der DNA-Strang linear amplifiziert. Da nicht eingebaute Nukleotide und Primer zu einem starken Hintergrund führen können und so das Lesen der ersten 100 Basenpaare erschweren, wurden die Sequenzierprodukte mittels *Sephadex-G-50 Superfine* (GE Healthcare Buchler) aufgereinigt. Die aufgereinigten Sequenzierprodukte wurden anschließend mit dem 3730 xl DNA-Analyzer sequenziert. Zur SNV-Detektion wurden die Software-Programme novoSNP (Weckx et al., 2005) und InSNP (Manaster et al., 2005) genutzt.

Als Ausgangsmaterial für die Sanger-Sequenzierung von 150 LLI und 150 jüngeren Kontrollen dienten *long-range* PCR-Produkte von Exon 3 (2.704 bp) und 4 (5.523 bp), deren DNA-Sequenz mehr als 800 Basenpaare umfasst (Abbildung 3-2). Die Primersequenzen zur Generierung der *long-range* PCR-Produkte für Exon 3 und Exon 4 sind in Kapitel 2.2 aufgeführt. Da die DNA-Sequenz der ersten beiden Exons (Exon 1 und 2) nicht länger als 800 Basenpaare ist, konnte entweder der Vorwärts- oder Rückwärtsprimer in den intronischen Bereich von *FOXO3A* gelegt werden und so immer noch eine *FOXO3A*-spezifische Amplifikation erlauben, während der dazugehörige zweite Primer im exonischen Bereich von Exon 1 oder Exon 2 von *FOXO3A* lokalisiert war.

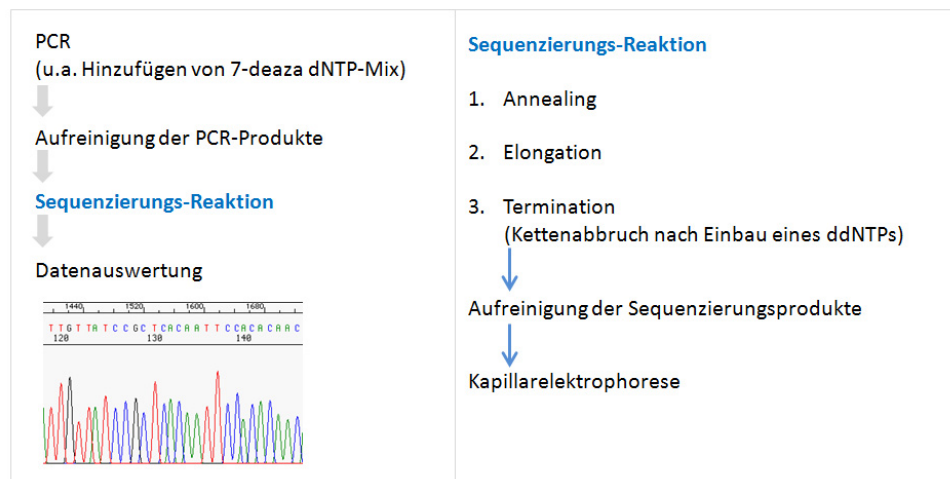


Abbildung 3-3: Prinzip der DNA-Sequenzierung nach Sanger. Quelle: eigene Darstellung, in Anlehnung an Ziegler und König (2010)

3.8.2 DNA-Sequenzierung mittels SOLiD-Technologie

Die SOLiD-Technologie (Sequenzierung durch Ligation, engl. *sequencing by oligonucleotide ligation and detection*, SOLiD) repräsentiert eine Sequenzier-technologie der nächsten Generation und wurde 2006 von Applied Biosystems (heute Life Technologies) entwickelt. Die Sequenzierungs-Reaktion beruht auf dem Hybridisierungs-Ligations-Prinzip (McKernan

et al., 2009; Shendure et al., 2005) (Abbildung 3-4). Die Schritte für die Sequenzierungsreaktion (Hybridisierung, Ligation und Detektion) werden mehrfach durchgeführt und der jeweilige neu legierte DNA-Strang durch Denaturierung entfernt. Danach erfolgt erneut die Hybridisierung des Universalprimers an die Adapter der DNA und die einzelnen Schritte (Hybridisierung, Ligation und Detektion) werden wiederholt durchlaufen. Die einzelnen Wiederholungen unterscheiden sich dadurch, dass jeweils andere Universalprimer eingesetzt werden, deren Position genau um eine Base gegenüber der ersten versetzt ist. Das heißt, jede Base wird letztlich zweimal erfasst. Dadurch können im Folgenden die ersten zwei Basenpositionen der eingesetzten Oktamere bestimmt und über einen Farbcode eindeutig zugeordnet werden.

Das Mappen der *Reads* gegen die Referenzsequenz erfolgte mit den Standardeinstellungen der BioScope Software. Die SNV-Detektion wurde mit den Software-Programmen *dibayes* (Applied Biosystems, 2010) und *SAMtools* (Li et al., 2009b) durchgeführt. Unter der Anwendung von *pibase* (Forster et al., 2013) wurden falsch-positive SNVs entfernt und zudem die Qualität der gemappten *Reads* bestimmt, um eine Validierung der detektierten SNVs zu ermöglichen. Die Sequenzabdeckung (engl. *coverage*) wurde mittels *BedTools* package (Quinlan and Hall, 2010), dem *Genome Analysis Toolkit* (McKenna et al., 2010) und dem *Genome Analysis Toolkit CombineVariants* (McKenna et al., 2010) erfasst. Die Annotation der detektierten SNVs erfolgte mit Hilfe von *snpActs* (<http://snpacts.ikmb.uni-kiel.de/>). Das Mappen der *Reads*, die SNV-Detektion, SNV-Validierung und Erfassung der Sequenzierabdeckung erfolgten am IKMB in Kiel durch Michael Forster und Nandini Badarinarayan.

Die gesamte *FOXO3A*-Genregion, die ca. 170 Kilobasen (kb) umfasst, wurde mittels der DNA-Proben von 34 LLI (≥ 100 Jahre) und 22 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre) resequenziert und mit einer Referenzsequenz verglichen. Für die Resequenzierung des gesamten *FOXO3A*-Gens wurden 23 *long-range* PCR-Produkte als Ausgangsmaterial eingesetzt. Die DNA-Sequenzierung nach SOLiD und die Herstellung der hierfür benötigten *long-range* PCR-Produkte mit vorheriger Library-Präparation erfolgte im Sequenzierlabor des IKMB in Kiel durch Dr. Sandra May.

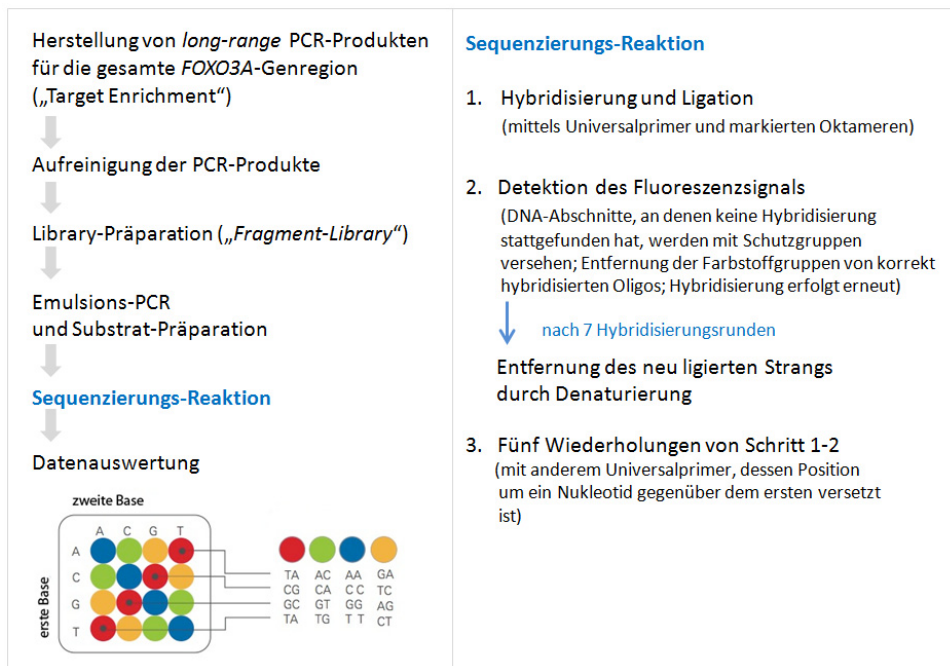


Abbildung 3-4: Prinzip der DNA-Sequenzierung mittels SOLiD-Technologie. Quelle: eigene Darstellung, in Anlehnung an Applied Biosystems (2008) und Mülhardt (2009)

3.8.3 DNA-Sequenzierung mittels Illumina-Technologie

Die Illumina-Technologie repräsentiert ebenfalls eine Sequenzieretechnologie der nächsten Generation und wurde von der Firma *Solexa* (heute *Illumina*) entwickelt und 2006 auf den Markt gebracht. Die Sequenzierungs-Reaktion beruht dabei auf dem Prinzip „Sequenzierung mit Brückensynthese“ (Ju et al., 2006) (Abbildung 3-5). Dadurch können gleichzeitig mehrere hundert bis tausend DNA-Moleküle sequenziert werden. Die Methode stellt eine Weiterentwicklung der Sanger-Methode dar. Allerdings ist dabei die Qualität der Sequenzen im Vergleich zur Sanger-Methode geringer, da mit der Zeit (bzw. über mehrere Zyklen hinweg) die Effizienz des Einbaus der markierten Nucleotide abnimmt, wodurch sich auch wesentlich geringere Leselängen ergeben.

Die DNA-Sequenzierung mittels Illumina-Technologie erfolgte für die gesamte *FOXO3A*-Genregion am IKMB in Kiel durch Dr. Friederike Flachsart, Markus Schilhabel und Dr. Abdou ElSharawy. Dazu wurden die DNA-Proben von 48 LLI, die ein Alter von ≥ 100 Jahren erreicht hatten, und 46 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre) genutzt. Für die exonischen Bereiche von *FOXO3A* (Exon 3 und 4) wurden *long-range* PCR-Produkte (300-600 bp) erstellt, um *FOXO3A*-Spezifität zu gewährleisten (Abbildung 3-5) (siehe Kapitel 3.8). Die Anreicherung der restlichen *FOXO3A* Zielsequenzen erfolgte mittels der *Raindance*-Technologie. SNV-Detektion und SNV-Validierung wurde unter Anwendung von GA pipeline

version 1.3 (support.illumina.com/downloads/pipeline_132.ilmm), FastQC package (Andrews, 2010) und SAMtools (Li et al., 2009b) durchgeführt. Für das Mappen der *Reads* gegen die Referenzsequenz wurde Burrows-Wheeler Aligner (Li and Durbin, 2009) genutzt. Die Sequenzabdeckung wurde mittels BedTools package (Quinlan and Hall, 2010) und Picard (<http://picard.sourceforge.net/>) analysiert. Das Mappen der *Reads*, die SNV-Detektion, SNV-Validierung und Überprüfung der Sequenzierabdeckung erfolgten am IKMB in Kiel durch Michael Forster und Nandini Badarinarayan. Die jeweiligen bioinformatischen Schritte sind in Abbildung 3-6 dargestellt. Detaillierte Informationen hierzu sind bei Petersen et al. gegeben (Petersen et al., 2014).

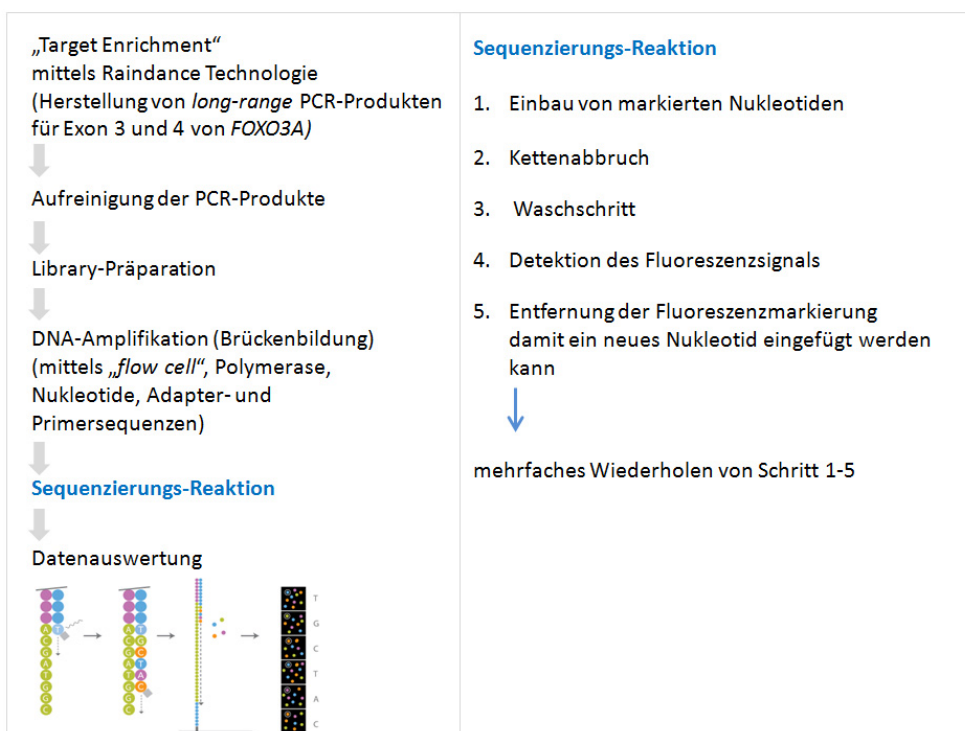


Abbildung 3-5: Prinzip der DNA-Sequenzierung mittels Illumina-Technologie. Quelle: eigene Darstellung in Anlehnung an Chi (2008) und Mülhardt (2009)

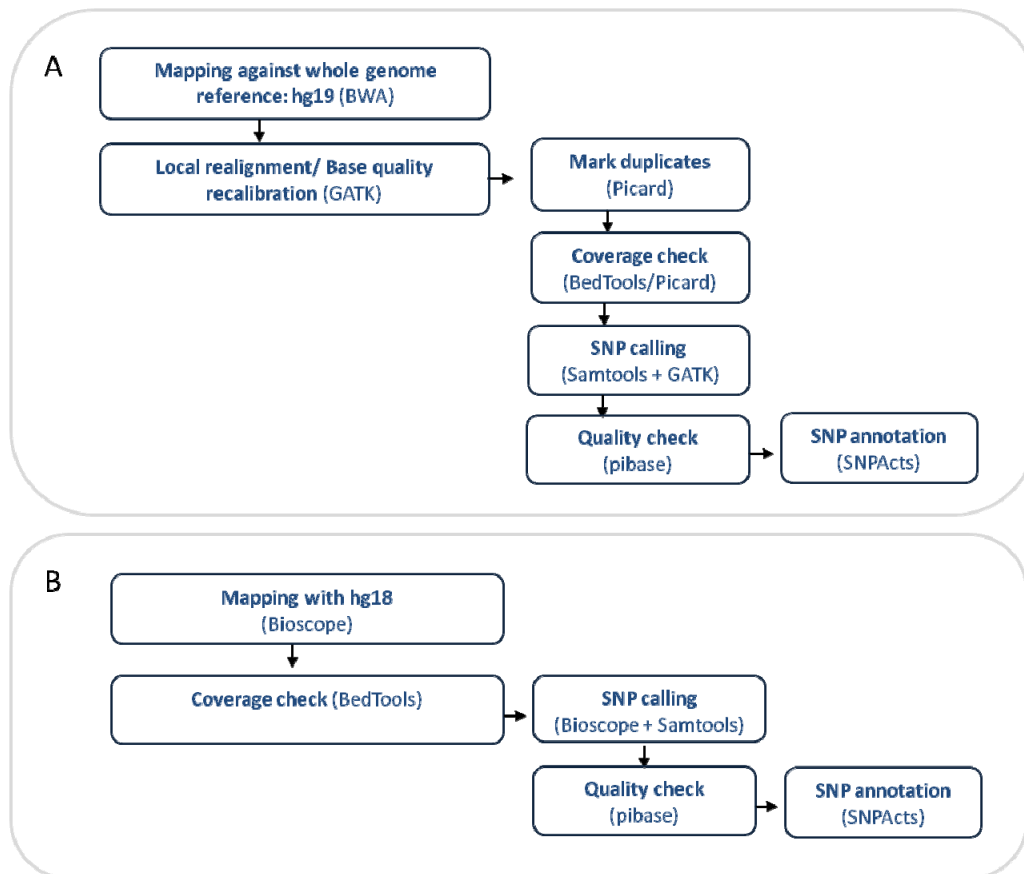


Abbildung 3-6: Schematische Darstellung der bioinformatischen Schritte für das *variant calling* von SOLiD- (a) und Illumina (b)- Sequenzen. Quelle: Nandini Badarinarayan (2014)

3.9 SNV-Auswahl für die Genotypisierung

3.9.1 SNV-Auswahl für die *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion

Die SNV-Auswahl für die *SOD1*, *SOD2* und *SOD3*-Genregion erfolgte auf der Grundlage des Kopplungsungleichgewichts (engl. *linkage disequilibrium*, LD), das durch die Koeffizienten D' und r^2 bestimmt wird. Dadurch lassen sich *haplotype tagging* SNVs definieren, die jeweils einen Haplotypblock charakterisieren. *Haplotype tagging* SNVs wurden mit dem Softwarepaket Haploview 4.2 (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/>) (Barrett, 2009) bestimmt ($r^2 \geq 0.8$) basierend auf den HapMap-SNV-Genotypdaten von Europäern.

3.9.2 SNV-Auswahl für die *CETP*-Genregion

Für die *CETP*-Genregion wurden mittels Haploview und den HapMap-SNV-Genotypdaten von Europäern *haplotype tagging* SNVs bestimmt (siehe auch Kapitel 3.10.3) ($r^2 \geq 0.8$). Unter den ausgewählten Markern sind auch SNVs, die bereits in der dänischen Population im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie getestet wurden (Soerensen et al., 2013). Zusätzlich

wurden SNVs ausgewählt, die eine genomweite signifikante Assoziation mit protektiven Lipoprotein-Profilen gezeigt haben (Smith et al., 2010; Willer et al., 2008).

3.9.3 SNV-Auswahl für die *FOXO3A*-Genregion

Alle seltenen und häufigen SNVs, die mittels SOLiD-, Illumina- und Sanger-Technologie detektiert worden sind, wurden zunächst unter Anwendung von verschiedenen bioinformatischen Tools und öffentlich zugänglichen Datenbanken analysiert, um potentiell funktionelle Effekte und zelltyp-spezifische regulatorische Bereiche zu identifizieren. Dazu gehörten der UCSC Genome Browser (<https://genome.ucsc.edu/>), HaploReg v2 (www.broadinstitute.org/mammals/haploreg), RegulomeDB (<http://regulomedb.org/>) und FuncPred (<http://snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm>). Mit Hilfe dieser bioinformatischen Tools und Datenbanken wurde u.a. nach Transkriptionsfaktor-Bindestellen, Enhancer-Regionen, mikroRNA-Bindestellen, Histonmodifikationen, DNase-I-hypersensitive Stellen, CpG-Inseln, konservierten Regionen und Spleißstellen gesucht (Tabelle 3-4).

SNVs, die in exonischen Regionen lokalisiert sind, wurden zunächst ohne vorherige *in silico* Analyse zur Typisierung ausgewählt, da SNVs in exonischen Regionen und Exon-Intron-Grenzen potentielle funktionelle Effekte auf das Spleißen, die Transkription sowie die Proteinstruktur und -funktion haben können (Baralle and Baralle, 2005; Lee and Shatkay, 2009; Li et al., 2013). Die exonischen Bereiche der *FOXO3A*-Genregion wurden sowohl mit NGS (SOLiD und Illumina) als auch mittels Sanger-Technologie sequenziert, um dadurch neben den häufigen SNVs auch gezielt seltene Varianten identifizieren zu können. Für die Feinkartierung wurden zusätzliche SNVs mit einer Frequenz des seltenen Alleles (engl., *minor allele frequency*, MAF) $\geq 0,05$ ausgewählt, um die Promotorregion, Exons, Introns, Exon-Intron-Grenzen sowie die 5'UTR und 3'UTR vollständig abdecken zu können und SNVs auszuwählen, die auch außerhalb von bisher identifizierten regulatorischen Bereichen lokalisiert sind.

Tabelle 3-4: Auswahl von SNVs in potentiell regulatorischen Bereichen

Regulatorische Bereiche	Datenbanken und Tools	Referenz
Exon1, 2, 3 und 4	SNV-Auswahl erfolgte über SOLiD-, Illumina- und Sanger-Sequenzierung	-
Promotorregion	SNV-Auswahl erfolgte über SOLiD-, Illumina- und Sanger-Sequenzierung	-
CpG-Inseln	https://genome.ucsc.edu/ http://snp-nexus.org	(Wu et al., 2010) (Dayem Ullah et al., 2013)
Methylierungsstellen	https://genome.ucsc.edu/	(Meissner et al., 2008)
Transkriptionsfaktor-Bindestellen	https://genome.ucsc.edu/ regulome.stanford.edu/ www.broadinstitute.org/mammals/haploreg/ trap.molgen.mpg.de/ http://snp-nexus.org	(Wang et al., 2012) (Gerstein et al., 2012) (Boyle et al., 2012) (Ward and Kellis, 2012) (Manke et al., 2010) (Dayem Ullah et al., 2013)
Enhancer-Regionen	https://genome.ucsc.edu/ http://snp-nexus.org	(Ernst and Kellis, 2010) (Dayem Ullah et al., 2013)
mikroRNA-Bindestellen	https://genome.ucsc.edu/ snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm http://snp-nexus.org	(Friedman et al., 2009) (Xu and Taylor, 2009) (Dayem Ullah et al., 2013)
Polyadenylierungssignale	https://genome.ucsc.edu/	(Zhang et al., 2005)
DNase-I-hypersensitive Stellen	https://genome.ucsc.edu/ regulome.stanford.edu/ www.broadinstitute.org/mammals/haploreg/	(Thurman et al., 2012) (Bernstein et al., 2012) (Boyle et al., 2012) (Ward and Kellis, 2012)
Evolutionär hoch konservierte Bereiche	https://genome.ucsc.edu/ www.broadinstitute.org/mammals/haploreg/ snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm http://snp-nexus.org	(Ward and Kellis, 2012) (Xu and Taylor, 2009) (Pollard et al., 2010) (Dayem Ullah et al., 2013)
Spleißstellen	snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm	(Xiao et al., 2007) (Xu and Taylor, 2009)
Histonmodifikation (H3K4me1, H3K4me3, H3K27ac)	https://genome.ucsc.edu/ regulome.stanford.edu/	(Bernstein et al., 2012) (Boyle et al., 2012)
eQTL	regulome.stanford.edu/ http://eqtl.uchicago.edu/cgi-bin/gbrowse/eqtl/ http://www.muth.ac.uk/ http://www.sanger.ac.uk/resources/software/genevar/#t_2 http://genenetwork.nl/bloodseqtlbrowser/ http://www.gtexportal.org	(Boyle et al., 2012) (Grundberg et al., 2012) (Yang et al., 2010) (Westra et al., 2013)
Regulatorisches Potential	snpinfo.niehs.nih.gov/snpinfo/snpfunc.htm http://dnase.genome.duke.edu	(Xu and Taylor, 2009) (Sheffield et al., 2013)

3.9.4 SNV-Zusammensetzung des Immuno-chips

Der Immuno-chip ist ein *Illumina Infinium* Genotypisierungschip, mit dem bis zu 195.806 SNVs gleichzeitig untersucht werden können, die v.a. in der europäischen Population vorkommen (Cortes and Brown, 2011; Parkes et al., 2013). Diese SNVs sind u.a. in entzündungsrelevanten Suszeptibilitätsloci lokalisiert, die im Rahmen von GWAS identifiziert worden sind und mit Entzündungserkrankungen wie z.B. Rheuma, Typ-2-Diabetes, multiple Sklerose, chronisch-entzündliche Darmerkrankungen und Psoriasis in Verbindung stehen (Trynka et al., 2011).

3.10 SNV-Genotypisierung

Die Genotypisierung von SNVs, die in exonischen Bereichen von *FOXO3A* lokalisiert sind, erfolgte auf der Grundlage vorher generierter *long-range* PCR-Produkte von Exon 3 und 4. *Long-range* PCR-Produkte wurden dabei für alle LLI (n=1.612) und jüngere Kontrollen (n=1.104) erstellt (~2.700 *long-range* PCR-Produkte für Exon 3 und ~2.700 *long-range* PCR-Produkte für Exon 3). Die Genotypisierung von SNVs in *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*, *CETP* und den intronischen Bereichen sowie der Promoterregion von *FOXO3A* erfolgte mittels genomischer DNA ohne vorherige *long-range* PCR-Produktion.

3.10.1 Genotypisierung mittels TaqMan-Technologie

Die TaqMan-Technologie basiert auf einer Real-Time PCR-Methode (Mullis et al., 1992) und wurde für die Genotypisierung einzelner genetischer Varianten genutzt. Neben den zu typisierenden DNA-Proben wurden die PCR-Platten zusätzlich mit Leerwertkontrollen und Positivkontrollen beladen, um eine Qualitätskontrolle der generierten Genotypisierungsdaten zu ermöglichen und mögliche Kontaminationen aufzuzeigen. Die Positivkontrollen stammten von humanen CEPH-Zelllinien (franz. *Centre d'Etude du Polymorphisme Humain*, CEPH). Die TaqMan-Genotypisierung erfolgte im Genotypisierungslabor des IKMB in Kiel dem Herstellerprotokoll entsprechend unter Anwendung des 7900HT Fast Real-time PCR Systems (Life Technologies). Die generierten Genotypen wurden anschließend in die interne Datenbank des IKMB Kiel importiert. Die erforderlichen TaqMan-Assays für die Genotypisierung der jeweiligen ausgewählten SNVs wurden bei Life Technologies bestellt.

3.10.2 Genotypisierung mittels Sequenom-Technologie

Die Sequenom-Technologie basiert auf dem iPLEX-Verfahren unter Anwendung der MALDI-TOF (engl. *matrix assisted laser desorption ionisation-time of flight*, MALDI-TOF) Massenspektrometrie zur SNV-Detektion. Damit können im Rahmen einer Multiplex-PCR bis zu 36 SNVs gleichzeitig genotypisiert werden. Das Assay-Design wurde unter Anwendung des *Human Genotyping Tools* (<https://www.mysequenom.com/Tools>) und der *Typer Analyzer 4.0* Software der Firma *Sequenom* (Hamburg, Deutschland) durchgeführt. Die Auswertung der Massenspektrogramme (*SNV calling*) erfolgte ebenfalls unter Anwendung der von Sequenom entwickelten *Typer Analyzer 4.0* Software, um die Qualität der generierten Genotypen anhand der für jeden SNV generierten *Clusterplots* zu überprüfen. Neben den zu typisierenden DNA-Proben wurden die PCR-Platten zusätzlich mit Leerwertkontrollen und Positivkontrollen beladen, um eine Qualitätskontrolle der generierten Genotypisierungsdaten

zu ermöglichen und mögliche Kontaminationen aufzuzeigen. Die Positivkontrollen stammten von humanen CEPH-Zelllinien. PCR-Amplifikation, Probenvorbereitung und Überführung der Proben auf den SpectroCHIP erfolgte nach Standardeinstellungen im Genotypisierungslabor am IKMB durch Sanaz Sedghpour Sabet und Tanja Wesse.

3.10.3 ImmunoChip-Technologie

Die Genotypisierung erfolgte im Genotypisierungslabor des IKMB in Kiel mittels Illumina iScan-System dem Herstellerprotokoll entsprechend durch Sanaz Sedghpour Sabet und Tanja Wesse. Das *SNV calling*, die Qualitätskontrolle der generierten Genotypen sowie die Genotypen-Assoziationsanalyse unter Anwendung des *linear mixed models* erfolgten am IKMB in Kiel durch Dr. David Ellinghaus. Der *Clusterplot*-Datensatz wurde anschließend einer weiteren visuellen Qualitätskontrolle unterzogen und es wurden SNVs entfernt, die schlechte *Clusterplots* zeigten, um nur diejenigen SNVs auszuwählen, für die eine eindeutige Zuordnung der detektierten Genotypen möglich war. Für Replikationsstudien wurden SNVs mit $p < 10^{-5}$ ausgewählt sowie SNVs mit $p < 0,001$, für die mindestens ein LD-SNV ($r^2 > 0,5$, $kb = 250$) identifiziert wurde.

3.11 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen wurden mit den Softwarepaketen Haploview 4.2 (<http://www.broad.mit.edu/mpg/haploview/>) und PLINK v.1.07 (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>) durchgeführt. Unter Anwendung des Chi-Quadrat-Tests wurden die allel- und genotypbasierten p-Werte ermittelt. P-Werte $\leq 0,05$ galten als nominell signifikant. Zusätzlich erfolgte die Berechnung der Odds Ratios. SNVs in der Kontrollstichprobe wurden auf Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (engl. *Hardy-Weinberg equilibrium*, HWE) getestet ($P_{HWE} > 0,001$). Die LD-basierte Haplotypanalyse wurde mittels Haploview 4.2 und COCAPHASE v2.404 durchgeführt, um häufige Haplotypen mit einer Frequenz $\geq 1\%$ zwischen der Fall- und Kontrollstichprobe miteinander vergleichen zu können. Genotypische Effekte wurden mittels Fisher-Exakt-Test analysiert. Der Einfluss einer oder mehrerer Variablen (z.B. Geschlecht, *APOE*-Genotyp) wurde mittels logistischer Regressionsanalysen unter Anwendung des Statistikprogramms R (Begum et al., 2012; R Development Core Team, 2008) (<http://www.R-project.org/>) durch Dr. Amke Caliebe am Institut für Medizinische Informatik und Statistik in Kiel analysiert. Die

statistische Auswertung zur Analyse möglicher signifikanter genotypabhängiger Effekte auf die *FOXO3A*-Genexpression basierte auf dem Mann-Whitney-U-Test.

3.12 *In silico* Analysen von *FOXO3A*-SNVs

3.12.1 Bioinformatische Tools zur Identifizierung von potentiell funktionellen Effekten der exonischen *FOXO3A*-SNVs

Non-synonymous FOXO3A-SNVs, die in kodierenden exonischen Bereichen lokalisiert sind und im Rahmen der NGS und Sanger-Technologie detektiert worden sind, wurden mittels SIFT (Kumar et al., 2009), PolyPhen2 (Adzhubei et al., 2010), PMut (Ferrer-Costa et al., 2005), SNAP (Bromberg and Rost, 2007), SNPs&Go (Calabrese et al., 2009) und MutPred (Li et al., 2009a) untersucht, um mögliche Effekte für diese SNVs abzuleiten. Tools für *in silico* Analysen von exonischen SNVs können dabei z.B. vorhersagen, ob der Austausch einer Aminosäure einen Einfluss auf Funktion und Struktur des zu kodierenden Proteins hat. *FOXO3A*-SNVs in nicht-kodierenden Exons, die über NGS und Sanger-Sequenzierung detektiert wurden und zudem starke Assoziationssignale gezeigt haben, wurden ebenfalls hinsichtlich möglicher Effekte analysiert. Zusätzlich wurde deren Einfluss auf das Spleißing, mikroRNA-Bindestellen und spleiß-regulatorische Elemente unter Anwendung bioinformatischer Tools untersucht (Flachsbart et al., 2013). *In silico* Analysen von SNVs in kodierenden und nicht-kodierenden Exons der *FOXO3A*-Genregion erfolgte am Institut für Medizinische Informatik und Statistik durch Carolin Knecht.

3.12.2 Vorhersage-Tools für Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten

Signifikant assoziierte *FOXO3A*-SNVs wurden unter Anwendung von sTRAP (Thomas-Chollier et al., 2011), HaploReg v2 (Ward and Kellis, 2012) und RegulomeDB (Boyle et al., 2012) hinsichtlich potentieller Effekte auf Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten untersucht. Transkriptionsfaktor-Bindestellen, die für SNVs mit den stärksten Assoziationssignalen identifiziert worden sind, wurden anschließend im Rahmen von funktionellen Studien validiert.

3.13 Funktionelle Studien zur Validierung *FOXO3A*-spezifischer *in silico* Befunde

3.13.1 Untersuchung genotypabhängiger Effekte auf die *FOXO3A*-Genexpression

Die Quantifizierung der *FOXO3A*-mRNA-Expression erfolgte über einen *FOXO3A*-spezifischen TaqMan-Assay (Hs00818121_m1) in 123 lymphoblastoiden Zelllinien aus heparinisierten Blutproben unverwandter Probanden (Nebel et al., 2009). Als endogene Kontrolle zur Normalisierung der generierten mRNA-Expressionslevel wurden in allen lymphoblastoiden Zelllinien die mRNA-Level vom Housekeeping-Gen *ACTB* gemessen (Hs99999903_m1). Die Genotypisierung der 123 lymphoblastoiden Zellen für den SNV mit den stärksten Assoziationssignalen (rs4946935) erfolgte über einen *FOXO3A*-spezifischen TaqMan assay (*assay by design*, AbD). TaqMan Assays zur mRNA-Quantifizierung und SNV-Genotypisierung wurden bei Life Technologies bestellt. RNA-Isolation, cDNA-Generierung, Quantifizierung der mRNA-Level sowie SNV-Genotypisierung unter Anwendung des 7900HT Fast Real-time PCR Systems (Life Technologies) erfolgten am IKMB in Kiel den Herstellerangaben durch Dorina Oelsner und Sanaz Sedghpour Sabet.

3.13.2 Untersuchung von gewebe- und zelltypspezifischen Genexpressionsmustern

Gewebe- und zelltypspezifische Genexpressionsmuster von *FOXO3A*, *SRF* (engl. *serum response factor*, SRF) und *PDX1* (engl. *pancreatic and duodenal homeobox 1*, PDX1) wurden mittels Endpoint-PCR erfasst. Dafür wurde cDNA von humanen Gewebeproben und Zelllinien (freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom zellbiologischen Labor des IKMB Kiel) als Template eingesetzt. Als endogene Kontrolle diente das Housekeeping-Gen *Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH)*. Die PCR-Reaktion erfolgte nach Standardprotokoll unter Berücksichtigung primerspezifischer Annealingtemperaturen. Die Primersequenzen für die spezifische Amplifikation von *FOXO3A*, *SRF* und *PDX1* sind in Kapitel 2.2 zu finden. Beim Primerdesign wurde darauf geachtet, dass die Primer jeweils eine Exon-Exon-Grenze überlagern, um die Amplifikation von genomischer DNA auszuschließen. Die amplifizierten PCR-Reaktionsprodukte wurden anschließend auf einem Agarosegel aufgetragen und unter Anwendung des Universal Hood II (Biorad, München, Deutschland) sichtbar gemacht.

3.13.3 Untersuchung allelspezifischer Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten mittels *Supershift-Assay*

Zur Untersuchung allelspezifischer Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten wurden nukleäre Proteinextrakte aus Jurkat- (humane akute lymphozytische Leukämie-Zelllinie, engl. *human acute lymphocytic leukemia cell line*), HeLa- (humane Zervixkarzinom-Zelllinie, engl. *human epithelial carcinoma cell line*) und Panc1-Zellen (humane Pankreas-Karzinomzellen, engl. *human pancreatic epithelioid carcinoma cell line*) gewonnen. Supershift-Assays zur Untersuchung von Protein-DNA-Komplexen wurden in der Klinik der Inneren Medizin (Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Kiel) im Labor für Molekulare Gastroenterologie durch Prof. Dr. Alexander Arlt und Frauke Grohmann durchgeführt. Die dafür verwendeten Oligonukleotide (23 bp), die jeweils das A- oder G-Allel des rs4946935 repräsentierten, wurden bei der Firma Microsynth bestellt. Die Oligonukleotidsequenzen (5'-3') waren:

*FOXO3A*_rs4946935_A: ACACCCCTAATATGGCTTTCTTT

*FOXO3A*_rs4946935_G: ACACCCCTAATGTGGCTTTCTTT

4 Ergebnisse

4.1 Genvarianten von *SOD1*, *SOD2* und *SOD3* zeigen keine Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit in der deutschen Studienpopulation

4.1.1 Charakterisierung von 19 ausgewählten *tagging* SNVs für die *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion

Für die *SOD1*-, *SOD2*-, und *SOD3*-Genregion wurden über den *haplotype tagging* Ansatz insgesamt 19 *tagging* SNVs ausgewählt. Von diesen 19 genetischen Markern waren drei SNVs in *SOD1*, acht SNVs in *SOD2* und weitere acht SNVs in *SOD3* lokalisiert. Die ausgewählten SNVs lagen dabei sowohl in intronischen als auch exonischen Bereichen sowie in Nähe der 5'UTR und in der 3'UTR (Tabelle 4-1). Bisherige prospektive Längsschnittstudien zum rs4880 verweisen auf eine signifikante Assoziation mit Langlebigkeit beim Menschen in der dänischen Population sowie in Aschkenazi-Juden (Soerensen et al., 2009; Stessman et al., 2005) (Tabelle 4-2).

Tabelle 4-1: Ausgewählte *tagging* SNVs in der *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion mit Angabe zu den beiden SNV-Allelen sowie SNV-Position und -Lokalisation. Zwei der 19 ausgewählten SNVs bewirken einen Aminosäureaustausch (rs4880, rs2536512) und könnten somit von funktioneller Relevanz sein.

Gen	Chr	SNV	Allel 1	Allel 2	Position (hg18)	Lokalisation
<i>SOD1</i>	21	rs4998557	G	A	31956763	Intron
		rs2070424	A	G	31961191	Intron
		rs1041740	C	T	31962033	Intron
<i>SOD2</i>	6	rs6917589	T	C	160019250	Nähe 3'UTR
		rs2842980	A	T	160020106	Nähe 3'UTR
		rs7855	A	G	160020292	3'UTR
		rs8031	A	T	160020630	Intron
		rs5746141	C	T	160022700	Intron
		rs5746136	C	T	160023074	3'UTR
		rs5746133	C	G	160023218	3'UTR
		rs4880	A	G	160033862	Exon (non- synonymous)
<i>SOD3</i>	4	rs13306703	C	T	24404611	Nähe 5'UTR
		rs8192287	G	T	24405666	Nähe 5'UTR
		rs699473	C	T	24405901	Nähe 5'UTR
		rs17881426	T	A	24408598	Intron
		rs1007991	C	G	24409783	Intron
		rs2536512	G	A	24410413	Exon (non- synonymous)
		rs8192291	C	T	24410452	Exon (synonymous)
rs8192290	T	C	24411510	3'UTR		

Tabelle 4-2: Bisherige signifikante Assoziationsbefunde ($p < 0,05$) mit dem Phänotyp Langlebigkeit für genetische Varianten in *SOD1*, *SOD2* und *SOD3*. Gelistet sind Angaben zur Fall- und Kontrollstichprobe sowie signifikante SNVs für die jeweilige Studienpopulation.

Population	Stichprobengröße	Alter	SNV	Referenz
Dänen	Gesamtstudienpopulation *: n= 1.650 Todesfälle: 1589 (96,3%)	92-93 Jahre	rs4880	Soerensen et al., 2009
Aschkenazi-Juden	Fallstichprobe **: n= 224	75 Jahre	rs4880	Stessmann et al., 2005
	Kontrollstichprobe: n= 441	22 Jahre		

* prospektive Längsschnittstudie: Alle Studienteilnehmer gehören nur einer Geburtskohorte an. Umweltbedingte Unterschiede in den Lebensumständen sind dadurch weitestgehend gering. In dieser Studie wurden die Mortalitätsraten von insgesamt 1650 dänischen Individuen erfasst, die zur Geburtskohorte von 1905 gehören. In einer 10-jährigen *Follow-up*-Studie wurden insgesamt 1.589 Todesfälle verzeichnet. Auf Grundlage dieser in der 10-jährigen *Follow-Up*-Studie erfassten Daten und den detektierten Genotypen wurden geschlechtsspezifische Hazard-Raten bestimmt. Diese sind ein Maß für das Sterberisiko einer Gruppe von Individuen mit dem SNV-Allel 1 (z.B. das C-Allel) im Vergleich zur Gruppe von Individuen mit SNV-Allel 2 (z.B. das T-Allel). Mittels Kaplan-Meier Kurven wurden die Überlebensraten in Abhängigkeit des jeweiligen SNV-Allels für Männer und Frauen geschätzt.

** prospektive Längsschnittstudie: Hierbei wurden die Allel- und Genotypfrequenzen zwischen der Fall- und Kontrollstichprobe in der jüdischen Population miteinander verglichen und eine Zunahme (bzw. Abnahme) der Allel- und Genotypfrequenzen mit dem Alter für das jeweilige SNV-Allel verzeichnet.

4.1.2 Assoziationsanalysen von 19 *tagging* SNVs in der *SOD1*, *SOD2* und *SOD3*-Genregion

Insgesamt wurden 19 *tagging* SNVs in der *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion in 1.612 LLI (≥ 95 Jahre) sowie einer Subpopulation von 748 LLI (≥ 100 Jahre) und 1.104 jüngeren Kontrollen getestet. Die getesteten SNVs zeigten keine signifikante Abweichung vom HWE in der Kontrollstichprobe ($p_{\text{HWE}} \geq 0,001$) und wurden somit in der Fall-Kontroll-Assoziationsanalyse berücksichtigt. Hierbei wurden keine signifikanten Assoziationsbefunde mit dem Phänotyp Langlebigkeit gefunden – weder in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI und 1.104 jüngere Kontrollen) (Tabelle 8-1, Anhang) noch in der untersuchten Subpopulation (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) (Tabelle 4-3). In einer geschlechtsspezifischen Assoziationsanalyse wurde lediglich ein SNV (rs8031) mit nominaler Signifikanz in der weiblichen Subpopulation identifiziert ($p=0,035$) (Daten nicht aufgeführt). Diese Assoziation konnte jedoch nach Korrektur für multiples Testen die Signifikanzschwelle nicht mehr erreichen.

Tabelle 4-3: Assoziationsbefunde für 19 SNVs in der *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion (748 LLI \geq 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle.

Gene	Chr	SNV	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
SOD1	21	rs4998557	0,120	0,127	0,520	0,933	0,755-1,152
		rs2070424	0,069	0,067	0,770	1,042	0,791-1,374
		rs1041740	0,306	0,306	0,998	1,000	0,860-1,163
SOD2	6	rs6917589	0,236	0,231	0,741	1,027	0,879-1,199
		rs2842980	0,206	0,200	0,689	1,036	0,873-1,229
		rs7855	0,045	0,046	0,842	0,969	0,706-1,328
		rs8031	0,476	0,499	0,186	0,911	0,793-1,046
		rs5746141	0,059	0,055	0,601	1,079	0,813-1,432
		rs5746136	0,311	0,296	0,354	1,074	0,924-1,247
		rs5746133	0,010	0,008	0,466	1,295	0,645-2,602
		rs4880	0,504	0,494	0,552	1,041	0,912-1,187
SOD3	4	rs13306703	0,092	0,095	0,764	0,964	0,760-1,224
		rs8192287	0,064	0,063	0,955	1,008	0,770-1,167
		rs699473	0,327	0,335	0,613	0,965	0,839-1,109
		rs17881426	0,090	0,098	0,425	0,907	0,715-1,152
		rs1007991	0,318	0,325	0,679	0,969	0,834-1,125
		rs2536512	0,341	0,340	0,942	1,005	0,875-1,155
		rs8192291	0,199	0,179	0,144	1,135	0,958-1,345
		rs8192290	0,025	0,030	0,428	0,841	0,548-1,291

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

Von den 19 *tagging* SNVs formen 18 SNVs vier Haplotypblöcke, wobei Block 1 drei SNVs in *SOD1*, Block 2 acht SNVs in *SOD2* und Block 3 und Block 4 sieben SNVs in *SOD3* umfasst (Abbildung 8-1, Anhang). Insgesamt wurden 17 Haplotypen mit einer Frequenz von mindestens 2% identifiziert. Die Haplotypanalyse in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) sowie in der untersuchten Subpopulation (748 LLI \geq 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) zeigte, dass keine dieser 17 Haplotypen signifikant mit dem Phänotyp Langlebigkeit assoziiert war (Tabelle 8-2, Anhang). Die Ergebnisse für die hier getesteten SNVs in der *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*- Genregion wurden in *Biogerontology* publiziert (Gentschew et al., 2013).

4.2 Das *CETP*-Gen als potentiell Kandidatengen für Langlebigkeit

4.2.1 Charakterisierung von 32 ausgewählten *tagging* SNVs für die *CETP*-Genregion

Insgesamt wurden 32 *tagging* SNVs ausgewählt, die sowohl innerhalb (Intron, Exon, 3'UTR) als auch außerhalb der *CETP*-Genregion liegen (Tabelle 4-4). Zwei der 32 *tagging* SNVs repräsentieren *non-synonymous* SNVs (rs5882, rs1800777), die zuvor jeweils eine

signifikante Assoziation mit Langlebigkeit beim Menschen in der dänischen Population (rs1800777) (Soerensen et al., 2013) und Aschkenazi-Juden (rs5882) (Atzmon et al., 2005; Barzilai et al., 2003) gezeigt haben. In der dänischen Population waren neben rs1800777 fünf weitere SNVs (rs9923854, rs9930761, rs289714, rs5883, rs4784744) signifikant mit dem Phänotyp Langlebigkeit assoziiert (Soerensen et al., 2013), die auch im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie getestet wurden (Tabelle 4-5).

Tabelle 4-4: Ausgewählte *tagging* SNVs in der *CETP*-Genregion mit Angabe zu den beiden SNV-Allelen sowie SNV-Position und -Lokalisation.

Nr.	SNV	Allel 1	Allel 2	Position (hg19)	Lokalisation
1	rs247616	C	T	55547091	Nähe 5'UTR
2	rs6499863	G	A	55549518	Nähe 5'UTR
3	rs12708967	T	C	55550712	Nähe 5'UTR
4	rs3764261	C	A	55550825	Nähe 5'UTR
5	rs4783961	G	A	55552395	Nähe 5'UTR
6	rs4783962	T	C	55552539	Nähe 5'UTR
7	rs1800775	C	A	55552737	Nähe 5'UTR
8	rs708272	C	T	55553789	Intron
9	rs1864163	G	A	55554734	Intron
10	rs9929488	G	C	55556073	Intron
11	rs12597002	C	A	55559905	Intron
12	rs11076174	T	C	55560647	Intron
13	rs891142	T	C	55561478	Intron
14	rs7205804	G	A	55562390	Intron
15	rs12708974	C	T	55563051	Intron
16	rs11076175	A	G	55563879	Intron
17	rs9930761	T	C	55564693	Intron
18	rs5883	C	T	55564854	Exon (<i>synonymous</i>)
19	rs289714	G	A	55564952	Intron
20	rs4784744	G	A	55568686	Intron
21	rs12720898	C	T	55568744	Intron
22	rs891144	C	T	55569437	Intron
23	rs1800774	C	T	55573046	Intron
24	rs5882	G	A	55573593	Exon (<i>non-synonymous</i>)
25	rs9923854	T	G	55574503	Intron
26	rs1800777	G	A	55574820	Exon (<i>non-synonymous</i>)
27	rs1801706	G	A	55575163	3'UTR
28	rs289742	C	G	55575263	Nähe 3'UTR
29	rs12720917	T	C	55576893	Nähe 3'UTR
30	rs289745	C	A	55577033	Nähe 3'UTR
31	rs17369163	C	G	55577828	Nähe 3'UTR
32	rs12934552	A	G	55578934	Nähe 3'UTR

Tabelle 4-5: Bisherige signifikante Assoziationsbefunde ($p < 0,05$) mit dem Phänotyp Langlebigkeit für genetische Varianten in *CETP*. Gelistet sind Angaben zur Fall- und Kontrollstichprobe sowie signifikante SNVs für die jeweilige Studienpopulation. Diese SNVs wurden auch in der deutschen Studienpopulation getestet. Ein SNV (rs5742907) wurde nicht in der deutschen Studienpopulation typisiert, da dieser nach den Angaben des HapMap-Konsortiums in der europäischen Population monomorph ist.

Population	Stichprobengröße	Alter	SNV	Referenz
Dänen	Fallstichprobe: n= 1.089	92-93 Jahre	rs9923854 rs9930761	Soerensen et al., 2013
	Kontrollstichprobe: n= 736	46-55 Jahre	rs289714 rs1800777 rs5883 rs4784744	
Population	Stichprobengröße	Alter	SNV	Referenz
Amerikaner japanischer Herkunft*	Gesamtstudien- population**: n= 3.562	71-93 Jahre	rs5742907	Koropatnick et al., 2008
Aschkenazi-Juden	Fallstichprobe: n= 156	95-107 Jahre	rs5882	Barzilai et al., 2003
	Nachkommen der Fallstichprobe: n= 163	51-89 Jahre		
	Kontrollstichprobe: n= 129	Ø 71 Jahre		

* Assoziationsbefunde bezogen auf eine männliche Fall- und Kontrollstichprobe

** prospektive Längsschnittstudie: Alle Studienteilnehmer gehörten zur Honolulu-Herz-Studie (*Honolulu Heart Program*). Hierbei wurden in einer *Follow-up*-Studie die Mortalitätsraten von einer Gruppe von Individuen mit dem SNV-Allel 1 im Vergleich zur Gruppe von Individuen mit SNV-Allel 2 bestimmt.

4.2.2 Assoziationsanalysen von 32 *tagging* SNVs in der *CETP*-Genregion

Alle 32 *tagging* SNVs in der *CETP*-Genregion wurden in 1.612 LLI (≥ 95 Jahre), einer Subpopulation von 748 LLI (≥ 100 Jahre) und 1.104 jüngeren Kontrollen getestet. In der Kontrollstichprobe zeigten die getesteten SNVs keine signifikante Abweichung vom HWE ($p_{\text{HWE}} \geq 0,001$). Drei der 32 *tagging* SNVs (rs1864163, rs705804, rs11076175) waren nominell signifikant mit dem Phänotyp Langlebigkeit assoziiert – sowohl in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) (Tabelle 4-6) als auch in der untersuchten Subpopulation (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) ($p \leq 0,05$) (Tabelle 8-3, Anhang). Die stärksten Assoziationssignale wurden dabei in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) für rs1864163 beobachtet ($p = 0,009$) (Tabelle 4-6, Abbildung 4-1). Diese Assoziationsbefunde waren jedoch nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant.

Die *APOε4* Variante, die durch zwei SNVs definiert wird (rs429358 und rs7412), zeigte im Rahmen von GWAS genomweite Assoziationssignale mit dem Phänotyp Langlebigkeit in verschiedenen ethnischen Populationen (Deelen et al., 2013b; Deelen et al., 2011; Nebel et al.,

2011; Sebastiani et al., 2010). Da *APOE* zudem eine zentrale Rolle im Lipoproteinstoffwechsel spielt, wurden zusätzlich die verfügbaren Genotypdaten von rs429358 und rs7412 für die hier untersuchte Studienpopulation in der statistischen Analyse (additives Modell) berücksichtigt, um einen möglichen Effekt der *APOε4* Variante auf die Assoziationsbefunde des rs1864163 zu identifizieren. Hierbei wurde keine signifikante Interaktion mit der *APOε4* Variante gefunden ($p=0,266$). Bei einer multiplen Analyse von den drei signifikanten SNVs (rs1800775, rs708272, rs1864163) bleiben nur rs1864163 und *APOε4* im Modell nach Rückwärtsselektion (Daten nicht aufgeführt).

In einer geschlechtsspezifischen Assoziationsanalyse wurden alle SNVs in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) bezüglich einer möglichen Interaktion mit dem Geschlecht untersucht. Für vier der 32 getesteten SNVs zeigten sich dabei signifikante Geschlechtsunterschiede (rs12597002, rs289742, rs9929488 und rs5882) ($p < 0,05$) (Daten nicht aufgeführt). In der Assoziationsanalyse für die Subgruppe der Männer (436 LLI ≥ 95 Jahre und 283 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren) zeigten sich für sechs SNVs (rs9929488, rs12597002, rs11076175, rs289714, rs5882, rs289742) signifikante p-Werte ($p \leq 0,05$), die (mit Ausnahme von rs11076175) weder in der Gesamtstudienpopulation noch in der Subgruppe der Frauen statistisch signifikant waren (Tabelle 4-6). Auffällig waren rs9929488 und rs5882: So zeigte rs9929488 unter Anwendung des Fisher-Exakt-Tests einen genotypischen Effekt und keinen allelischen Effekt ($p=0,001$). In der männlichen Subpopulation (146 LLI ≥ 100 Jahre und 283 jüngere Kontrollen) wurde für rs5882 trotz der geringeren Stichprobengröße im Vergleich zur weiblichen Subpopulation (602 LLI ≥ 100 Jahre und 821 jüngere Kontrollen) die stärkste Assoziation gezeigt ($p=0,005$) (Tabelle 8-4, Anhang), die jedoch nach Korrektur für multiples Testen nicht mehr signifikant war.

Tabelle 4-6: Assoziationsbefunde für SNVs in der *CETP*-Genregion (1.612 LLI \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die gesamte Studienpopulation (1.612 LLI \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren) sowie die Subgruppe der Frauen (1.177 LLI \geq 95 Jahre und 821 jüngere Kontrollen) und Männer (436 LLI \geq 95 Jahre und 283 jüngere Kontrollen).

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs247616	gesamt	0,331	0,312	0,147	1,091	0,970-1,228
		Frauen	0,333	0,305	0,071	1,136	0,989-1,304
		Männer	0,326	0,331	0,845	0,978	0,779-1,227
2	rs6499863	gesamt	0,175	0,184	0,397	0,941	0,817-1,083
		Frauen	0,170	0,183	0,274	0,912	0,773-1,076
		Männer	0,189	0,186	0,896	1,018	0,776-1,336
3	rs12708967	gesamt	0,171	0,183	0,241	0,918	0,797-1,059
		Frauen	0,180	0,185	0,695	0,968	0,821-1,140
		Männer	0,146	0,178	0,102	0,787	0,591-1,049
4	rs3764261	gesamt	0,333	0,314	0,136	1,094	0,972-1,230
		Frauen	0,335	0,308	0,072	1,135	0,989-1,302
		Männer	0,328	0,331	0,914	0,988	0,787-1,239
5	rs4783961	gesamt	0,497	0,494	0,835	1,012	0,907-1,128
		Frauen	0,507	0,490	0,283	1,072	0,944-1,217
		Männer	0,468	0,505	0,171	0,862	0,697-1,066
6	rs4783962	gesamt	0,239	0,233	0,608	1,035	0,909-1,178
		Frauen	0,232	0,235	0,803	0,981	0,843-1,142
		Männer	0,258	0,226	0,172	1,192	0,927-1,534
7	rs1800775	gesamt	0,495	0,470	0,072	1,105	0,991-1,232
		Frauen	0,500	0,468	0,049	1,136	1,001-1,290
		Männer	0,481	0,475	0,826	1,024	0,828-1,267
8	rs708272	gesamt	0,433	0,410	0,093	1,099	0,984-1,228
		Frauen	0,437	0,412	0,133	1,104	0,970-1,255
		Männer	0,425	0,404	0,435	1,090	0,878-1,354
9	rs1864163	gesamt	0,234	0,266	0,009	0,846	0,746-0,959
		Frauen	0,238	0,264	0,060	0,869	0,751-1,006
		Männer	0,225	0,270	0,052	0,784	0,613-1,002
10	rs9929488	gesamt	0,266	0,281	0,216	0,926	0,820-1,046
		Frauen	0,270	0,271	0,958	0,996	0,864-1,148
		Männer	0,256	0,313	0,020	0,758	0,600-0,957
11	rs12597002	gesamt	0,307	0,305	0,842	1,012	0,899-1,140
		Frauen	0,298	0,314	0,291	0,928	0,809-1,066
		Männer	0,333	0,279	0,033	1,289	1,021-1,627
12	rs11076174	gesamt	0,077	0,078	0,916	0,989	0,807-1,212
		Frauen	0,079	0,076	0,738	1,041	0,821-1,321
		Männer	0,074	0,085	0,444	0,858	0,579-1,271
13	rs891142	gesamt	0,002	0,002	0,580	0,706	0,204-2,440
		Frauen	0,002	0,002	0,873	0,898	0,241-3,349
		Männer	0	0,002	0,222	NA	NA
14	rs7205804	gesamt	0,444	0,417	0,048	1,117	1,001-1,247
		Frauen	0,448	0,415	0,040	1,144	1,006-1,301
		Männer	0,435	0,424	0,679	1,046	0,844-1,297
15	rs12708974	gesamt	0,106	0,103	0,733	1,032	0,863-1,233
		Frauen	0,107	0,110	0,730	0,965	0,787-1,183
		Männer	0,105	0,083	0,180	1,288	0,889-1,866
16	rs11076175	gesamt	0,156	0,179	0,023	0,845	0,731-0,977
		Frauen	0,158	0,174	0,195	0,894	0,754-1,059
		Männer	0,149	0,194	0,024	0,723	0,546-0,959
17	rs9930761	gesamt	0,073	0,071	0,875	1,017	0,824-1,256
		Frauen	0,075	0,070	0,573	1,073	0,840-1,372
		Männer	0,067	0,076	0,521	0,874	0,580-1,319
18	rs5883	gesamt	0,068	0,063	0,481	1,082	0,868-1,350
		Frauen	0,069	0,063	0,440	1,106	0,856-1,429
		Männer	0,065	0,064	0,934	1,019	0,660-1,573

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
19	rs289714	gesamt	0,155	0,170	0,146	0,897	0,774-1,039
		Frauen	0,158	0,164	0,601	0,955	0,804-1,135
		Männer	0,146	0,186	0,050	0,753	0,566-1,001
20	rs4784744	gesamt	0,344	0,355	0,391	0,951	0,849-1,066
		Frauen	0,346	0,365	0,237	0,923	0,809-1,054
		Männer	0,336	0,327	0,718	1,043	0,832-1,307
21	rs12720898	gesamt	0,064	0,065	0,851	0,979	0,784-1,222
		Frauen	0,057	0,067	0,226	0,850	0,653-1,106
		Männer	0,083	0,062	0,143	1,368	0,898-2,086
22	rs891144	gesamt	0,011	0,012	0,740	0,917	0,551-1,528
		Frauen	0,012	0,010	0,610	1,175	0,631-2,188
		Männer	0,009	0,018	0,154	0,513	0,201-1,307
23	rs1800774	gesamt	0,349	0,352	0,805	0,986	0,879-1,105
		Frauen	0,346	0,350	0,792	0,982	0,860-1,122
		Männer	0,357	0,358	0,954	0,993	0,795-1,241
24	rs5882	gesamt	0,318	0,322	0,758	0,981	0,871-1,106
		Frauen	0,329	0,314	0,335	1,071	0,932-1,231
		Männer	0,288	0,345	0,026	0,767	0,607-0,969
25	rs9923854	gesamt	0,119	0,106	0,137	1,140	0,959-1,356
		Frauen	0,120	0,108	0,251	1,125	0,920-1,375
		Männer	0,118	0,101	0,322	1,189	0,844-1,676
26	rs1800777	gesamt	0,027	0,027	0,878	0,974	0,696-1,363
		Frauen	0,027	0,026	0,823	1,046	0,704-1,556
		Männer	0,026	0,032	0,505	0,807	0,429-1,518
27	rs1801706	gesamt	0,184	0,172	0,247	1,088	0,943-1,255
		Frauen	0,178	0,174	0,792	1,023	0,866-1,208
		Männer	0,202	0,165	0,077	1,285	0,973-1,697
28	rs289742	gesamt	0,126	0,131	0,566	0,954	0,811-1,122
		Frauen	0,132	0,124	0,425	1,081	0,893-1,307
		Männer	0,109	0,154	0,014	0,675	0,493-0,923
29	rs12720917	gesamt	0,154	0,156	0,873	0,988	0,850-1,149
		Frauen	0,162	0,158	0,753	1,028	0,864-1,224
		Männer	0,135	0,150	0,408	0,880	0,649-1,192
30	rs289745	gesamt	0,370	0,368	0,833	1,012	0,904-1,134
		Frauen	0,371	0,367	0,813	1,016	0,890-1,159
		Männer	0,370	0,369	0,989	1,002	0,803-1,249
31	rs17369163	gesamt	0,135	0,136	0,888	0,989	0,843-1,159
		Frauen	0,130	0,139	0,402	0,924	0,767-1,112
		Männer	0,148	0,127	0,275	1,190	0,871-1,625
32	rs12934552	gesamt	0,134	0,129	0,575	1,047	0,891-1,231
		Frauen	0,137	0,127	0,348	1,094	0,906-1,321
		Männer	0,126	0,134	0,634	0,926	0,676-1,270

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

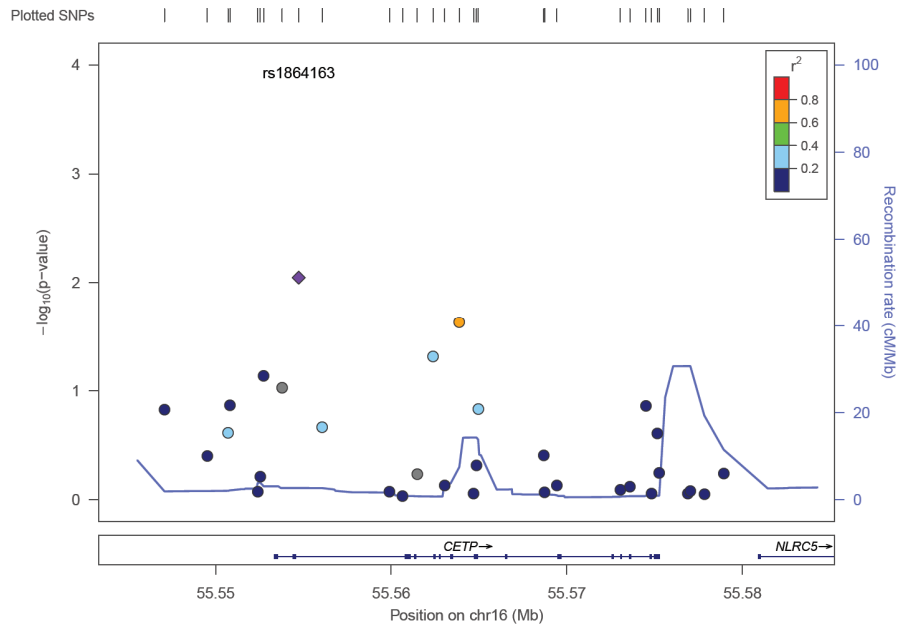


Abbildung 4-1: Assoziationsbefunde für 32 SNVs in der *CETP*-Genregion (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Die schematische Darstellung erfolgte mit *Locuszoom*.

Die 32 getesteten SNVs formen acht Haplotypblöcke (Abbildung 4-2). Der SNV mit den stärksten Assoziationssignalen (rs1864163) ist in einem Haplotyp-Block lokalisiert, der insgesamt drei genetische Marker umfasst (rs1800775, rs708272, rs1864163). Die drei genetischen Marker formen vier häufige Haplotypen mit einer Frequenz von je $\geq 5\%$. Die Haplotypanalyse der gesamten Studienpopulation zeigte, dass ein Haplotyp signifikant mit Langlebigkeit assoziiert war ($p=0,007$; globale Signifikanz=0,039) (Abbildung 4-2).

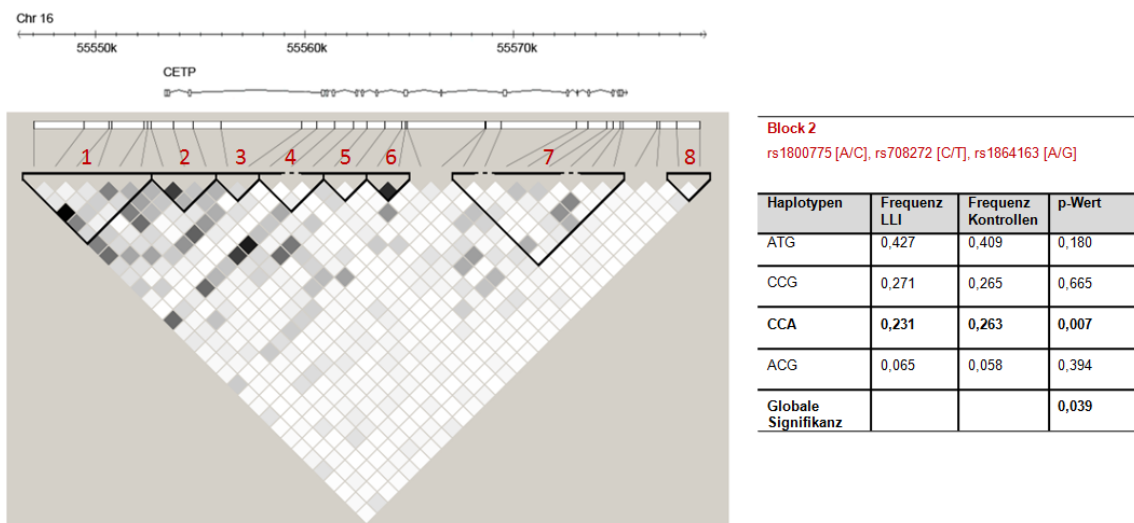


Abbildung 4-2: Schematische Darstellung der *CETP*-Genregion auf Chromosom 16. Die physikalische Position der 32 *tagging* SNVs bezieht sich auf das Genome Reference Consortium Human genome build 36. Die LD-Plots wurden mittels Haploview 4.2 generiert und basieren auf den jeweiligen r^2 von 1.612 LLI und 1.104 jüngeren Kontrollen. Ein Haplotyp in Block 2 zeigte eine signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit ($p=0,007$; globale Signifikanz=0,039).

Zwei *non-synonymous* SNVs in den kodierenden exonischen Region (rs5882 und rs1800777) wurden für eine Vorhersage von möglichen potentiellen Effekten mit folgenden bioinformatischen Tools untersucht: SIFT (Kumar et al., 2009), Polyphen2 (Adzhubei et al., 2010), SNAP (Bromberg and Rost, 2007), SNPs & Go (Calabrese et al., 2009) und MutPred (Li et al., 2009a). Von den zwei analysierten *non-synonymous* SNVs zeigte keines der hier genannten Tools mit hoher Verlässlichkeit einen möglichen pathologischen Effekt an (Tabelle 8-5, Anhang).

Im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie wurden vorherige signifikante Assoziationsbefunde für den Phänotyp Langlebigkeit, die für einen *non-synonymous* SNV (rs5882) in Aschkenazi-Juden und für sechs weitere SNVs (rs1800777, rs289714, rs4784744, rs5883, rs9923854, rs9930761) in der dänischen Population aufgezeigt wurden (Barzilai et al., 2003; Soerensen et al., 2013), nicht in der untersuchten deutschen Population bestätigt.

4.2.3 Replikationsstudien

Zur Validierung der gefundenen Assoziationssignale im *CETP*-Gen wurden Replikationsstudien in der französischen Studienpopulation durchgeführt. Es wurde ein SNV getestet, der in der deutschen Studienpopulation die stärksten Assoziationssignale gezeigt hat (Tabelle 4-6). Das seltene Allel für diesen SNV (rs1864163) wurde – wie in der deutschen Studienpopulation – zwar häufiger in den Kontrollen detektiert, jedoch konnten die Assoziationsbefunde für rs1864163 nicht in der französischen Population repliziert werden ($p=0,191$; $OR=0,926$) (Tabelle 4-7). Im Rahmen einer geschlechtsspezifischen Analyse konnten ebenfalls keine signifikanten Assoziationen für rs1864163 beobachtet werden ($p>0,05$) (Tabelle 4-7).

Tabelle 4-7: Assoziationsbefunde für rs1864163 in der französischen Replikationsstichprobe (1.264 LLI ≥ 90 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die gesamte Studienpopulation (1.264 ≥ 90 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) sowie die Subgruppe der Frauen (1.032 LLI ≥ 90 Jahre und 1.105 jüngere Kontrollen) und Männer (232 LLI ≥ 95 Jahre und 725 jüngere Kontrollen).

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
rs1864163	gesamt	0,264	0,279	0,191	0,926	0,826-1,039
	Frauen	0,266	0,275	0,544	0,959	0,837-1,098
	Männer	0,254	0,286	0,182	0,850	0,670-1,079

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

4.3 Untersuchungen von *FOXO3A* deuten auf funktionell relevante SNVs für Langlebigkeit beim Menschen

4.3.1 *FOXO3A*-spezifische *long-range* Produkte ermöglichen eine verlässliche Sequenzierung und Genotypisierung von *FOXO3A*

Die Sequenzierung des *FOXO3A*-Gens unter Anwendung der SOLiD-, Illumina- und Sanger-Technologie erfolgte mittels vorher generierter *FOXO3A long-range* PCR-Produkte aufgrund der starken Sequenzhomologie der exonischen Bereiche zum Pseudogen *FOXO3B*. Dadurch konnten Sequenzierungsfehler, die aus der unspezifischen Bindung der Sequenzierprimer an das *FOXO3B*-Gen resultieren würden, minimiert und *FOXO3A*-Spezifität gewährleistet werden. Mit diesem experimentellen Versuchsaufbau zur Generierung von *long-range* PCR-Produkten wurde deutlich, dass verlässliche Sequenzier- und Genotypisierungsergebnisse für stark homologe Bereiche zwischen *FOXO3A* und dem Pseudogen *FOXO3B* lediglich durch vorher amplifizierte und *FOXO3A*-spezifische Zielregionen gewonnen werden können.

So zeigte die genetische Untersuchung eines SNVs (rs4945816) für das gleiche Individuum im Rahmen der Sequenzierung und Genotypisierung unterschiedliche Genotypen in Abhängigkeit vom eingesetzten Probenmaterial auf (Tabelle 4-8). Hierbei wurden für das gleiche Individuum für rs4645816 unterschiedliche Sequenzier- und Genotypisierungsergebnisse auf Grundlage von vorher generierten *FOXO3A*- und *FOXO3B-long-range* Produkten sowie genomischer DNA gewonnen. Für genomische DNA konnten die jeweiligen Genotypen, die zuvor mittels *FOXO3A*-spezifischer *long-range* PCR-Produkte generiert wurden, über einen *FOXO3A*-spezifischen TaqMan-Assay bestätigt werden, da hierbei Sequenzunterschiede von einzelnen Basen erfasst werden können und somit *FOXO3A*-Spezifität gewährleistet wird. Der Einsatz von genomischer DNA für die Sequenom-Typisierung ist für die homologen Bereiche hingegen nicht geeignet, da sowohl *FOXO3A*- als auch *FOXO3B*-spezifische Sequenzbereiche erfasst werden können, wodurch ein Mix aus *FOXO3A*- und *FOXO3B*-Genotypen generiert wird, was nur durch den Einsatz der *FOXO3A*-spezifischen *long-range* Produkte vermieden werden kann. Dieser Versuchsaufbau zur *FOXO3A*-spezifischen Untersuchung der stark homologen Bereiche konnte 2013 im *European Journal of Human Genetics* veröffentlicht werden (Flachsbart et al., 2013).

Tabelle 4-8: Generierte Genotypen von acht Individuen für den rs4645816 im Rahmen der Genotypisierung und Sequenzierung. Die Genotypen wurden auf der Grundlage von *FOXO3A*- und *FOXO3B*-*long-range* Produkten sowie genomischer DNA mittels Sequenom-, TaqMan- und Sanger-Technologie bestimmt. Fett markierte Genotypen verweisen auf Individuen mit unspezifischen Sequenzier- und Typisierungsergebnissen bzw. auf einen Mix der *FOXO3A*- und *FOXO3B*-Genotypen für die genomische DNA.

SNV	Individuum	Verwendetes Probenmaterial				
		<i>FOXO3A</i> <i>long-range</i> Produkt (Sequenom)	<i>FOXO3A</i> <i>long-range</i> Produkt (Sanger- Sequenzierung)	<i>FOXO3B</i> <i>long-range</i> Produkt (Sequenom)	Genomische DNA (Sequenom)	Genomische DNA (TaqMan; hCV27392797, AoD*)
rs4645816	1	TT	TT	CC	CT	TT
	2	CC	CC	CC	CC	CC
	3	TT	TT	CC	CT	TT
	4	TT	TT	CC	CT	TT
	5	TT	TT	CC	CT	TT
	6	CT	NA	CC	NA	CT
	7	CC	CC	CC	CC	CC
	8	TT	TT	CC	TT	TT

* AoD, *Assay on Demand*, angefordert von Life Technologies; Quelle: Flachsbart et al. (2013)

4.3.2 Resequenzierung des *FOXO3A*-Gens mittels SOLiD-, Illumina- und Sanger-Technologie

4.3.2.1 Sequenzierung der gesamten *FOXO3A*-Genregion mittels SOLiD- und Illumina Technologie

Mittels SOLiD-Technologie wurde die gesamte *FOXO3A*-Genregion in 34 LLI (≥ 100 Jahre) und 22 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre) sequenziert. Um *FOXO3A*-Spezifität gewährleisten zu können, wurden 23 *FOXO3A long-range* Produkte für die gesamte Genregion generiert. Dabei konnte keine vollständige Abdeckung von Regionen unmittelbar vor und nach der 5'UTR sowie innerhalb der letzten beiden Introns erzielt werden (Abbildung 4-3).

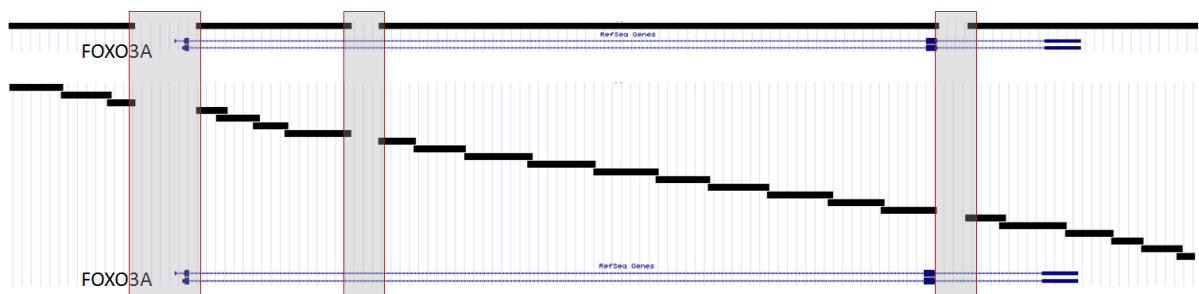


Abbildung 4-3: Generierung von 23 *long-range* PCR-Produkten als Ausgangsmaterial für die SOLiD-Sequenzierung der gesamten *FOXO3A*-Genregion. Die grauen Schattierungen verweisen auf nicht abgedeckte Regionen unmittelbar vor und nach der 5'UTR sowie innerhalb der letzten beiden Introns. Quelle: eigene Darstellung unter Anwendung vom UCSC Genome Browser

Um eine vollständige Abdeckung der gesamten *FOXO3A*-Genregion zu gewährleisten, erfolgte daher die DNA-Sequenzierung zusätzlich mittels Illumina-Technologie. Hierfür wurden 48 weitere LLI (≥ 100 Jahre) und 46 jüngere Kontrollen (60-75 Jahre) sequenziert. Die PCR-basierte Anreicherung der genomischen *FOXO3A*-Zielregion (engl., *target enrichment*) erfolgte über die Herstellung von 349 Fragmenten (300-600 bp) und zwei *long-range* PCR-Fragmenten für die letzten beiden Exons (2.704 bp und 5.523 bp). Mittels Illumina-Sequenzierung konnte die gesamte *FOXO3A*-Genregion sequenziert und die vorhandenen Lücken, die bei der SOLiD-Sequenzierung unmittelbar vor und nach der 5'UTR sowie innerhalb von Intron 1 und 2 zu beobachten waren, geschlossen werden (Abbildung 4-4).

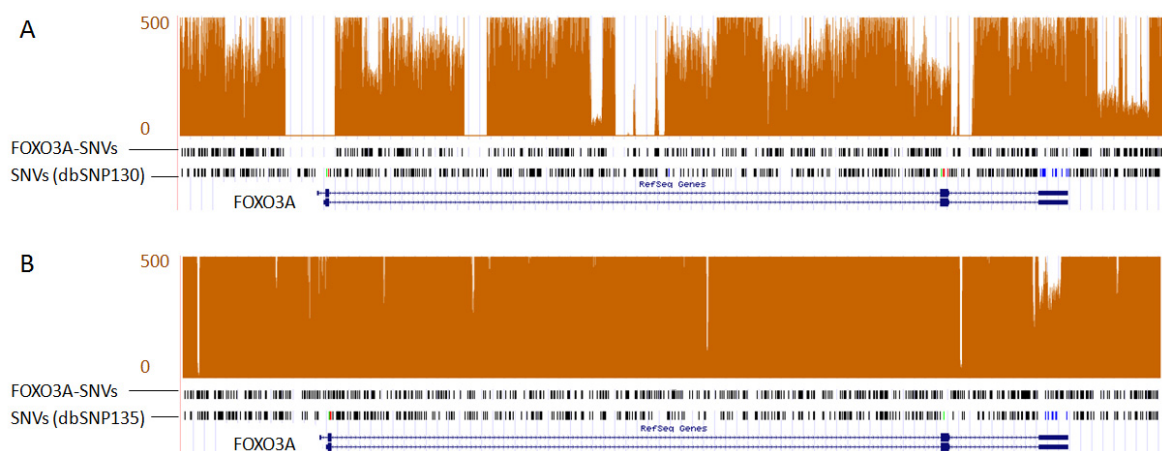


Abbildung 4-4: Sequenzabdeckung der gesamten *FOXO3A*-Genregion mittels SOLiD (A) und Illumina (B). Nicht abgedeckte Regionen unmittelbar vor und nach der 5'UTR sowie innerhalb der letzten beiden Introns, die im Rahmen der SOLiD-Sequenzierung beobachtet wurden (A), konnten mittels Illumina-Sequenzierung geschlossen werden (B). Im Rahmen der SOLiD-Sequenzierung wurde nach dem Mappen der *Reads* für alle Individuen 80% der zu sequenzierenden Zielregion bei 50-facher Coverage abgedeckt. Über die Illumina-Sequenzierung konnte für alle Individuen 99% der zu sequenzierenden Zielregion bei einer *coverage* von 30X abgedeckt werden. Quelle: eigene Darstellung unter Anwendung vom UCSC Genome Browser

Im Rahmen der SOLiD- und Illumina-Technologie wurden insgesamt 82 Individuen (≥ 100 Jahre) und 68 jüngere Kontrollen (60-75 Jahre) sequenziert. Mittels SOLiD-Sequenzierung wurden dabei 817 SNVs und mittels Illumina-Sequenzierung 557 SNVs detektiert, die in der gesamten *FOXO3A*-Genregion lokalisiert sind (Tabelle 8-6 und 8-7, Anhang). Beide Sequenziertechnologien zeigten eine Überschneidung von 298 SNVs, d.h. insgesamt wurden 1.076 SNVs mit SOLiD und Illumina identifiziert (Abbildung 4-5).

FOXO3A Resequenzierung	Sequenziermethode	
	SOLiD	Illumina
	34 LLI (≥100 Jahre), 22 Kontrollen (60-75 Jahre)	48 LLI (≥100 Jahre), 46 Kontrollen (60-75 Jahre)
gesamte Genregion	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Promotor	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Exons	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Gesamtanzahl detektierter SNVs	817	557

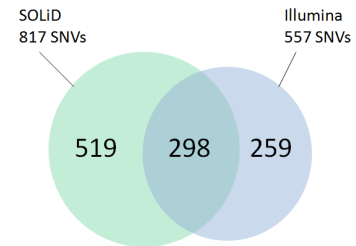


Abbildung 4-5: Anzahl detektierter SNVs mittels SOLiD- und Illumina-Sequenzierung der gesamten FOXO3A-Genregion. Beide Sequenziertechnologien zeigten eine Überschneidung von 298 SNVs, während 519 SNVs nur mittels SOLiD und 259 SNVs nur mittels Illumina-Technologie identifiziert wurden.

4.3.2.2 Sequenzierung der Promotorregion und exonischen Bereiche mittels Sanger-Technologie

Im Rahmen der Sanger-Sequenzierung wurden lediglich die Promotorregion sowie die exonischen Bereichen der beiden *FOXO3A*-Transkripte NM_201559 und NM001455 in 150 LLI (≥100 Jahre) und 150 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre) sequenziert, um sowohl häufige als auch seltene Varianten in solch evolutionär hoch konservierten Regionen detektieren zu können. Für die Herstellung von 24 PCR Fragmenten (358-766 bp) dienten u.a. vorher generierte *FOXO3A*-spezifische *long-range* PCR-Produkte von Exon 3 (2.704 bp) und Exon 4 (5.523 bp) sowie genomische DNA für die Sequenzierung der Promotorregion und der ersten beiden Exone. Die Sequenzierprimer für die Promotorregion und der ersten beiden Exone wurden dabei für *FOXO3A*-spezifische und nicht-homologe Sequenzbereiche generiert. Insgesamt wurden 42 SNVs detektiert, die sowohl in der Promotorregion als auch in Exon 2, 3 und 4 der beiden *FOXO3A*-Transkripte NM_201559 und NM001455 lokalisiert sind (Tabelle 4-9 und 4-10). Im zusätzlichen nicht-kodierenden Exon 1 vom *FOXO3A*-Transkript NM_201559 wurden keine SNVs identifiziert. Es zeigte sich eine Überschneidung von 18 SNVs mit den über NGS-Technologien (SOLiD und Illumina) detektierten SNVs, d.h. mittels Sanger-Sequenzierung wurden zusätzlich 24 weitere SNVs identifiziert (Tabelle 4-10).

Tabelle 4-9: Detektierte SNVs in der FOXO3A-Genregion unter Anwendung der Sanger-Sequenziermethode. Die identifizierten SNVs in LLI und jüngeren Kontrollen (a) wurden im Folgenden anhand von SNV-Lokalisation und SNV-Typ charakterisiert (b).

a)

FOXO3A Resequenzierung	Sanger 150 LLI(≥100 Jahre), 150 jüngere Kontrollen (60-75 Jahre)
gesamte Genregion	-
Promotor	<input checked="" type="checkbox"/>
Exons	<input checked="" type="checkbox"/>
Gesamtanzahl detektierter SNVs	42

b)

FOXO3A Resequenzierung	Sanger 150 LLI (≥100 Jahre), 150 jüngere Kontrollen (60-75 Jahre)
Bekannte SNVs (dbSNP)	23
Unbekannte SNVs	19
Non-synonymous SNVs	6
Synonymous SNVs	5
5'UTR	-
3'UTR	18
Intronische SNVs	NA
SNVs außerhalb der Genregion	13

Tabelle 4-10: Position und Lokalisation von *FOXO3A*-SNVs in exonischen Bereichen und der Promotorregion, die mittels Sanger-Sequenzierung detektiert wurden. Die physikalische Position der 42 identifizierten SNVs bezieht sich auf das Genome Reference Consortium Human genome build 36.

Nr.	SNV	Position (hg18)	FOXO3A-Genregion	Detektion mittels SOLiD-Sequenzierung	Detektion mittels Illumina-Sequenzierung
1	snv_chr6_108986024	108986024	Promotor	nein	nein
2	snv_chr6_108986029	108986029	Promotor	nein	ja
3	rs145562362	108986522	Promotor	nein	ja
4	snv_chr6_108986635	108986635	Promotor	nein	nein
5	rs74447671	108986847	Promotor	nein	ja
6	snv_chr6_108986850	108986850	Promotor	nein	nein
7	snv_chr6_108987041	108987041	Promotor	nein	nein
8	rs72940666	108987180	Promotor	nein	ja
9	rs76185277	108987339	Promotor	nein	ja
10	rs113490969	108987345	Promotor	nein	nein
11	snv_chr6_108987574	108987574	Promotor	nein	nein
12	rs192590091	108988547	Promotor	nein	ja
13	snv_chr6_108988580	108988580	Promotor	nein	nein
14	rs11757217	108989263	Exon 2	nein	ja
15	snv_chr6_108989376	108989376	Exon 2	nein	nein
16	rs111556510	108989523	Exon 2	nein	ja
17	rs150320900	108989608	Exon 2	nein	nein
18	rs61756661	109091476	Exon 3	nein	ja
19	rs145259784	109091750	Exon 3	nein	nein
20	rs374860833	109091914	Exon 3	nein	nein
21	rs181686373	109092090	Exon 3	nein	nein
22	snv_chr6_109092246	109092246	Exon 3	nein	nein
23	snv_chr6_109092372	109092372	Exon 3	nein	nein
24	rs113367269	109092586	Exon 3	nein	nein
25	rs4945816	109108735	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
26	snv_chr6_109109087	109109087	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
27	rs13213342	109109651	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
28	rs181539642	109109689	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
29	rs146847197	109109805	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
30	rs4946936	109110014	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
31	rs9400241	109110682	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
32	snv_chr6_109110853	109110853	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
33	snv_chr6_109110893	109110893	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
34	snv_chr6_109110915	109110915	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
35	rs192376282	109111072	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
36	snv_chr6_109111537	109111537	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
37	snv_chr6_109111718	109111718	Exon 4 (3'UTR)	nein	ja
38	snp_109005122	109111815	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
39	rs118138902	109111871	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein
40	snv_chr6_109112126	109112126	Exon 4 (3'UTR)	nein	nein

Nr.	SNV	Position (hg18)	FOXO3A-Genregion	Detektion mittels SOLiD-Sequenzierung	Detektion mittels Illumina-Sequenzierung
41	rs111727905	109112281	Exon 4 (3'UTR)	ja	ja
42	rs140445546	109112607	Exon 4 (3'UTR)	nein	ja

4.3.3 Auswahl von 253 SNVs für die FOXO3A-Genregion in potentiell regulatorischen Bereichen

Für eine effektive SNV-Auswahl für die Genotypisierung wurden insgesamt 1.101 SOLiD-, Illumina- und Sanger-SNVs unter Anwendung von bioinformatischen Tools und Datenbanken untersucht. SNVs, die im Rahmen der Sanger-Sequenzierung detektiert wurden, sind ohne Vorauswahl genotypisiert worden, da der Promotorbereich, Exon-Intron-Grenzen und die kodierenden sowie nicht-kodierenden exonischen Regionen von potentiell funktioneller Relevanz sind (Stepanova et al., 2006; Wang and Cooper, 2007; Yates and Sternberg, 2013). Um aus der Vielzahl an identifizierten SNVs in den intronischen Bereichen und den Regionen außerhalb der Genregion SNVs für weitere Genotypisierungsexperimente auszuwählen, wurde mittels bioinformatischer Datenbanken und Tools wie dem UCSC Genome Browser HaploReg v2, RegulomeDB und FuncPred nach SNVs in möglichen regulatorischen Bereichen gesucht (Tabelle 3-4).

Insgesamt wurden ca. 103 SNVs unter Anwendung bioinformatischer Datenbanken und Tools ausgewählt. Für ein Finemapping wurden weitere 150 SNVs, die über die SOLiD- und Illumina-Technologie detektiert wurden, in der gesamten Studienpopulation getestet (Tabelle 4-11). Vier der insgesamt 253 ausgewählten SNVs waren *non-synonymous* SNVs. Von diesen *non-synonymous* SNVs zeigte keine Variante einen signifikanten Assoziationsbefund mit dem Phänotyp Langlebigkeit. Genetische Varianten in FOXO3A, die im Intron oder außerhalb der Genregion lokalisiert sind und zuvor eine signifikante Assoziation mit Langlebigkeit in Amerikanern japanischer Herkunft (Willcox et al., 2008a), Deutschen (Flachsbart et al., 2009), Südtalienern (Anselmi et al., 2009), Han-Chinesen (Li et al., 2009c), Aschkenazi-Juden (Pawlikowska et al., 2009) und Dänen (Soerensen et al., 2010) gezeigt haben, wurden ebenfalls getestet (Tabelle 4-12).

Tabelle 4-11: SNV-Lokalisation von allen ausgewählten 253 FOXO3A-SNVs. 104 SNVs wurden unter Anwendung von bioinformatischen Datenbanken und Tools hinsichtlich potentiell regulatorischer Bereiche ausgewählt. 150 zusätzliche SNVs, die zuvor über die SOLiD-, Illumina- und Sanger-Sequenzierung detektiert wurden, sind im Folgenden für die Feinkartierung hinzugefügt worden.

SNV-Typ	Anzahl ausgewählter SNVs
SNVs in kodierenden Exons	7
SNVs in der 5'- und 3'UTR	14
Intronische SNVs	167
SNVs außerhalb der Genregion	65
Gesamt: 253 SNVs	

Tabelle 4-12: Bisherige signifikante Assoziationsbefunde ($p < 0,05$) mit dem Phänotyp Langlebigkeit für genetische Varianten in FOXO3A. Gelistet sind Angaben zur Fall- und Kontrollstichprobe sowie signifikante SNVs für die jeweilige Studienpopulation. Die SNVs sind dabei jeweils entsprechend der beobachteten Assoziationssignale aufgeführt. Die fett markierten SNVs zeigten auch in der deutschen Subpopulation (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) eine signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit ($p < 0,05$).

Population	Stichprobengröße	Alter	SNV (p-Wert; OR*)	Referenz
Dänen**	Fallstichprobe: n= 313	92-93 Jahre	rs12206094 ($p=0,0076$; OR=1,38) rs2802292 ($p=0,0078$; OR=1,34)	Soerensen et al., 2010
	Kontrollstichprobe: n= 371	46-55 Jahre	rs9486902 ($p=0,0118$; OR=1,40) rs13220810 ($p=0,0223$; OR=0,75) rs3800231 ($p=0,0495$; OR=1,26)	
Amerikaner japanischer Herkunft**	Fallstichprobe: n= 213	95-106 Jahre	rs2802292 ($p < 0,0001$) rs2764264 ($p=0,0002$)	Willcox et al., 2008a
	Kontrollstichprobe: n= 402	73-81 Jahre	rs13217795 ($p=0,0006$)	
Südtaliener**	Fallstichprobe: n= 281	90-108 Jahre	rs2802292 ($p=0,0028$; OR=1,53) rs2802288 ($p=0,003$; OR=1,51)	Anselmi et al., 2009
	Kontrollstichprobe: n= 195	18-48 Jahre	rs13217795 ($p=0,0176$; OR=1,42) rs2764264 ($p=0,0267$; OR=1,37) rs10499051 ($p=0,04$; OR=1,57)	
Han-Chinesen	Fallstichprobe: n= 761	\emptyset 102 Jahre	rs4946936 ($p=1,8 \times 10^{-5}$; OR=1,40) rs2802292 ($p=2,9 \times 10^{-5}$; OR=1,36)	Li et al., 2009c
	Kontrollstichprobe: n= 1.056	\emptyset 47 Jahre	rs2253310 ($p=7,9 \times 10^{-5}$; OR=1,35)	
Aschkenazi-Juden	Fallstichprobe: n= 383	95-108 Jahre	rs1935949 ($p=0,016$; OR=1,36) rs4946935 ($p=0,029$; OR=1,33)	Pawlikowska et al., 2009
	Kontrollstichprobe: n= 363	43-94 Jahre		
Deutsche	Fallstichprobe: n= 388	100-110 Jahre	rs3800231 ($p=0,0002$; OR=1,42) rs9400239 ($p=0,0007$; OR=1,38) rs479744 ($p=0,001$; OR=1,40) rs7762395 ($p=0,005$; OR=1,38) rs2802288 ($p=0,006$; OR=1,28) rs6911407 ($p=0,006$; OR=1,28) rs768023 ($p=0,007$; OR=1,27) rs2802290 ($p=0,010$; OR=1,26) rs1268170 ($p=0,020$; OR=1,24) rs13220810 ($p=0,020$; OR=0,78) rs473268 ($p=0,044$; OR=1,21)	Flachsbar et al. 2009
	Kontrollstichprobe: n= 731	60-75 Jahre		

* Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

** Assoziationsbefunde bezogen auf eine männliche Fall- und Kontrollstichprobe

4.3.4 Assoziationsanalysen von ausgewählten SNVs in der *FOXO3A*-Genregion

Die Genotypisierungsergebnisse für exonische SNVs in der *FOXO3A*-Genregion wurden auf der Grundlage vorher hergestellter *long-range* PCR-Produkte für Exon 3 und Exon 4 generiert. Die *long-range* PCR Herstellung erfolgte dabei für die gesamte Studienpopulation (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) sowohl für Exon 3 als auch Exon 4. DNA-Proben, für die keine *long-range* PCR Erstellung erfolgen konnte, wurden aus der Analyse ausgeschlossen, um eine verlässliche *FOXO3A*-spezifische Genotypisierung ohne *FOXO3B*-Kontamination zu ermöglichen. Nach Herstellung von *FOXO3A long-range* Produkten für die gesamte Studienpopulation (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) wurden DNA-Proben von 504 LLI und 186 jüngere Kontrollen nicht mit in die Analyse eingeschlossen, da für diese Proben keine *long-range* PCR-Produkte generiert werden konnten, d.h. letztlich wurden 1.109 LLI ≥ 95 Jahre, eine Subpopulation von 594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen in die Assoziationsanalyse einbezogen.

Von den 253 ausgewählten SNVs waren 11 SNVs monomorph. Siebenunddreißig weitere SNVs wurden aus der Analyse ausgeschlossen, da für diese SNVs im Rahmen der SNV-Genotypisierung keine verlässlichen Daten generiert werden konnten, d.h. die Assoziationsanalysen wurden für insgesamt 205 SNVs aufgeführt. Eine Tabelle zu den 48 SNVs, die aus der Analyse ausgeschlossen worden sind, ist in Tabelle 8-8 (Anhang) gegeben.

Alle getesteten 205 SNVs zeigten keine signifikante Abweichung vom HWE in der Kontrollstichprobe ($p_{\text{HWE}} \geq 0,001$) und wurden deshalb vollzählig in der Fall-Kontroll-Assoziationsanalyse berücksichtigt. Im Vergleich zur gesamten Studienpopulation (1.109 LLI ≥ 95 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) wurden die stärksten Assoziationsbefunde für alle getesteten 205 SNVs in der Subpopulation beobachtet (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) (Abbildung 4-7 und 4-8). Die allel- und genotypbasierten p-Werte für diese Subpopulation sind in Tabelle 8-9 (Anhang) für alle 205 SNVs gegeben. Von den 205 untersuchten SNVs zeigten 54 SNVs eine signifikante Assoziation mit Langlebigkeit ($p < 0,05$) (Tabelle 4-13 und Abbildung 4-6). Diese signifikanten SNVs waren im Intron, in der 3'UTR oder außerhalb der *FOXO3A*-Genregion lokalisiert. Die stärkste Assoziation wurde für einen SNV (rs4946935) in Nähe der 3'UTR beobachtet – sowohl in der gesamten Studienpopulation (1.109 LLI ≥ 95 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) als auch in der Subpopulation (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) (Abbildung 4-7 und 4-8). Nach Korrigieren für multiples Testen konnte jedoch keine der 54 assoziierten SNVs, die in den intronischen Bereichen sowie außerhalb der Genregion lokalisiert sind, einen statistisch signifikanten p-

Wert erreichen. Dies liegt jedoch in der Vielzahl der typisierten SNVs begründet. Allerdings ist multiples Testen im Rahmen dieser Studie nicht relevant, da die Assoziationsbefunde von *FOXO3A*-SNVs bereits in verschiedenen Populationen validiert wurden (Anselmi et al., 2009; Flachsbart et al., 2009; Li et al., 2009c; Pawlikowska et al., 2009; Willcox et al., 2008a). Ziel der vorliegenden Arbeit war es, SNVs mit den stärksten Assoziationssignalen zu detektieren, um im Folgenden mögliche funktionelle Effekte ableiten zu können.

Im kodierenden Exon 2 und 3 gab es keine statistisch signifikanten SNVs ($p > 0,05$). In Exon 2 wurden unter Anwendung der drei Sequenziertechnologien vier SNVs detektiert (rs150320900, snv_chr6_108882683, rs11757217 und rs111556510). Diese vier SNVs sind in Sequenzbereichen lokalisiert, die eine starke Sequenzhomologie zum Pseudogen *FOXO3B* aufweisen. Da im Rahmen der Typisierung für diese Region keine *FOXO3A*-spezifischen *long-range* PCR-Produkte generiert wurden, könnten mittels Hochdurchsatz-Genotypisierung möglicherweise auch unspezifische Genotypdaten für *FOXO3B* generiert werden (Abbildung 8-2, Anhang). Die in Exon 2 identifizierten vier SNVs wurden daher zunächst unter Berücksichtigung der MAFs und dem Vorhandensein von LD-SNVs untersucht. Zwei der vier detektierten SNVs (rs150320900 und snv_chr6_108882683) wurden aufgrund der geringen MAF aus der Fall-Kontroll-Studie ausgeschlossen ($MAF \leq 0,001$). Die anderen beiden SNVs (rs11757217 und rs111556510) zeigten eine $MAF \geq 0,05$. Über die *FOXO3A*-spezifischen Sequenzierdaten von insgesamt 170 LLI (≥ 100 Jahre) und 136 jüngeren Kontrollen (60-75 Jahre) zeigte sich für rs11757217 lediglich einen Unterschied in der Allelfrequenz zwischen Fall- und Kontrollstichprobe von $< 2\%$. Eine weitere Fall-Kontroll-Studie für diesen SNV unter Generierung von *FOXO3A*-spezifischen *long-range* Produkten für die gesamte Studienpopulation (1.109 LLI ≥ 95 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) wurde demzufolge nicht durchgeführt. Im Gegensatz zum rs11757217 wurden für den rs111556510 geeignete LD-SNVs ($r^2 > 0,8$) im intronischen Bereich ausgewählt, um Rückschlüsse auf eine mögliche Assoziation für diesen SNV mit Langlebigkeit beim Menschen zu ziehen. LD-SNVs von rs111556510 zeigten jedoch keine signifikante Assoziation (z.B. rs77626104, $p = 0,0477$; rs111254195, $p = 0,522$; rs113032762, $p = 0,534$) (Tabelle 8-9, Anhang).

Die geschlechtsspezifische Analyse für alle getesteten 205 SNVs zeigte, dass statistisch signifikante Assoziationen ebenfalls in der Subpopulation der Frauen zu detektieren waren, während bei den Männern die Signifikanzschwelle ($p < 0,05$) in der Regel nicht mehr erreicht wurde. Dies liegt aber v.a. in der geringen Stichprobengröße der männlichen Subpopulation begründet (119 LLI ≥ 100 Jahre und 237 jüngeren Kontrollen zwischen 60-75 Jahren) (Tabelle

8-10, Anhang). Dennoch waren in der männlichen Subgruppe zwölf *FOXO3A*-SNVs signifikant mit Langlebigkeit assoziiert ($p < 0,05$), die in der weiblichen Subgruppe (475 LLI ≥ 100 Jahre und 681 jüngeren Kontrollen zwischen 60-75 Jahren) keinen signifikanten p-Wert gezeigt haben ($p > 0,05$) (Tabelle 8-10, Anhang). Zudem zeigten sich für die meisten der assoziierten SNVs stärkere Odds Ratios in der männlichen Subgruppe als in der Frauen-Subgruppenanalyse (Tabelle 4-13).

Tabelle 4-13: Statistisch signifikante Assoziationen für 54 SNVs in der *FOXO3A*-Genregion ($p < 0,05$). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die gesamte Studienpopulation (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren) sowie die Subgruppe der Frauen (475 LLI ≥ 100 Jahre und 681 jüngere Kontrollen) und Männer (119 LLI ≥ 100 Jahre und 237 jüngere Kontrollen). Die SNVs sind entsprechend der berechneten p-Werte sortiert. SNVs in Exon 4 (3'UTR) sind fett markiert.

Nr.	SNV	Lokalisation	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs4946935	Intron	gesamt	0,370	0,304	0,00026	1,345	1,147-1,577
			Frauen	0,372	0,313	0,004	1,303	1,088-1,559
			Männer	0,360	0,278	0,032	1,458	1,032-2,060
2	rs12206094	Intron	gesamt	0,345	0,287	0,001	1,306	1,116-1,529
			Frauen	0,342	0,291	0,011	1,261	1,055-1,508
			Männer	0,357	0,275	0,024	1,469	1,052-2,050
3	rs1935949	Intron	gesamt	0,337	0,281	0,002	1,301	1,105-1,531
			Frauen	0,338	0,288	0,013	1,265	1,052-1,521
			Männer	0,330	0,260	0,059	1,403	0,986-1,996
4	rs9398172	Intron	gesamt	0,347	0,294	0,002	1,277	1,091-1,494
			Frauen	0,349	0,302	0,017	1,240	1,039-1,481
			Männer	0,339	0,271	0,064	1,379	0,982-1,938
5	rs4945816	Exon (3'UTR)	gesamt	0,343	0,291	0,003	1,273	1,087-1,491
			Frauen	0,343	0,302	0,038	1,208	1,010-1,444
			Männer	0,346	0,261	0,019	1,500	1,067-2,108
6	rs2022464	Intron	gesamt	0,353	0,300	0,003	1,270	1,086-1,485
			Frauen	0,355	0,308	0,017	1,240	1,039-1,480
			Männer	0,344	0,280	0,083	1,348	0,961-1,890
7	rs4946936	Exon (3'UTR)	gesamt	0,346	0,294	0,003	1,267	1,083-1,483
			Frauen	0,345	0,302	0,028	1,220	1,021-1,457
			Männer	0,348	0,272	0,039	1,423	1,016-1,991
8	rs9398171	Intron	gesamt	0,348	0,298	0,004	1,262	1,079-1,476
			Frauen	0,348	0,306	0,033	1,213	1,016-1,449
			Männer	0,348	0,273	0,043	1,418	1,011-1,989
9	rs10457180	Intron	gesamt	0,352	0,301	0,004	1,262	1,078 -1,476
			Frauen	0,354	0,308	0,022	1,230	1,030-1,47
			Männer	0,344	0,280	0,085	1,346	0,959-1,889
10	rs3800229	Intron	gesamt	0,343	0,293	0,004	1,262	1,078 -1,477
			Frauen	0,344	0,300	0,026	1,224	1,025-1,463
			Männer	0,339	0,272	0,067	1,372	0,977-1,928
11	rs35396874	Intron	gesamt	0,344	0,294	0,004	1,260	1,076-1,474
			Frauen	0,344	0,302	0,032	1,216	1,017-1,452
			Männer	0,344	0,272	0,052	1,399	0,997-1,964
12	rs4946932	Intron	gesamt	0,353	0,303	0,004	1,258	1,076-1,472
			Frauen	0,354	0,309	0,025	1,225	1,025-1,463
			Männer	0,350	0,284	0,073	1,359	0,972-1,900
13	rs2153960	Intron	gesamt	0,349	0,299	0,004	1,256	1,074 -1,469
			Frauen	0,348	0,308	0,044	1,200	1,005-1,433
			Männer	0,351	0,272	0,033	1,444	1,029-2,028
14	rs3800227	Intron	gesamt	0,317	0,269	0,004	1,264	1,075-1,485
			Frauen	0,323	0,275	0,015	1,253	1,045-1,503
			Männer	0,294	0,249	0,206	1,256	0,882-1,787

Nr.	SNV	Lokalisation	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
15	rs1935951	Intron	gesamt	0,325	0,273	0,004	1,282	1,080 -1,522
			Frauen	0,334	0,279	0,008	1,297	1,070-1,573
			Männer	0,289	0,258	0,421	1,170	0,798-1,716
16	rs1935952	Intron	gesamt	0,343	0,293	0,004	1,261	1,074 -1,479
			Frauen	0,344	0,302	0,036	1,213	1,013-1,453
			Männer	0,341	0,268	0,051	1,411	0,998-1,994
17	rs9374040	Intro	gesamt	0,343	0,294	0,005	1,255	1,072 -1,469
			Frauen	0,344	0,302	0,032	1,216	1,017-1,452
			Männer	0,339	0,272	0,067	1,372	0,977-1,928
18	rs3800228	Intron	gesamt	0,342	0,293	0,005	1,253	1,070 -1,467
			Frauen	0,344	0,301	0,033	1,215	1,016-1,452
			Männer	0,335	0,270	0,076	1,360	0,968-1,913
19	rs2764264	Intron	gesamt	0,358	0,308	0,005	1,249	1,068 -1,46
			Frauen	0,359	0,316	0,032	1,213	1,017-1,448
			Männer	0,352	0,287	0,078	1,353	0,966-1,895
20	rs9486902	Nähe 5'UTR	gesamt	0,194	0,152	0,005	1,349	1,092 -1,665
			Frauen	0,196	0,150	0,007	1,388	1,092-1,764
			Männer	0,186	0,158	0,385	1,222	0,776-1,925
21	rs2253310	Intron	gesamt	0,440	0,389	0,006	1,235	1,064 -1,433
			Frauen	0,442	0,395	0,024	1,214	1,026-1,438
			Männer	0,431	0,371	0,127	1,283	0,932-1,766
22	rs2802292	Intron	gesamt	0,436	0,385	0,006	1,236	1,063 -1,436
			Frauen	0,437	0,392	0,035	1,201	1,013-1,424
			Männer	0,435	0,364	0,073	1,344	0,973-1,856
23	rs9480867	Intron	gesamt	0,192	0,153	0,006	1,311	1,080 -1,592
			Frauen	0,193	0,152	0,010	1,334	1,070-1,663
			Männer	0,187	0,157	0,314	1,237	0,817-1,871
24	rs2802288	Intron	gesamt	0,438	0,387	0,007	1,234	1,060 -1,437
			Frauen	0,438	0,392	0,031	1,208	1,017-1,436
			Männer	0,437	0,372	0,102	1,311	0,948-1,814
25	rs2764261	Intron	gesamt	0,436	0,386	0,007	1,232	1,060 -1,432
			Frauen	0,437	0,391	0,029	1,210	1,020-1,435
			Männer	0,433	0,371	0,119	1,294	0,935-1,789
26	rs3813498	Intron	gesamt	0,219	0,179	0,007	1,288	1,072 -1,548
			Frauen	0,216	0,178	0,024	1,272	1,032-1,567
			Männer	0,233	0,181	0,112	1,366	0,929-2,010
27	rs2490272	Intron	gesamt	0,439	0,388	0,007	1,230	1,059 -1,428
			Frauen	0,439	0,394	0,029	1,207	1,019-1,430
			Männer	0,435	0,373	0,118	1,291	0,937-1,778
28	rs9400239	Intron	gesamt	0,351	0,303	0,007	1,243	1,060 -1,458
			Frauen	0,355	0,313	0,036	1,211	1,013-1,449
			Männer	0,332	0,273	0,118	1,320	0,931-1,871
29	rs9285397	Intron	gesamt	0,196	0,159	0,008	1,295	1,069 -1,569
			Frauen	0,197	0,156	0,011	1,326	1,066-1,649
			Männer	0,191	0,165	0,379	1,201	0,798-1,807
30	rs9486913	Intron	gesamt	0,192	0,155	0,009	1,294	1,067 -1,570
			Frauen	0,193	0,154	0,014	1,316	1,057-1,639
			Männer	0,187	0,158	0,339	1,223	0,809-1,849
31	rs3800231	Intron	gesamt	0,342	0,296	0,009	1,237	1,055 -1,45
			Frauen	0,344	0,305	0,049	1,198	1,001-1,434
			Männer	0,333	0,271	0,091	1,348	0,953-1,906
32	rs9486916	Nähe 3'UTR	gesamt	0,218	0,177	0,009	1,299	1,067 -1,582
			Frauen	0,213	0,180	0,073	1,227	0,981-1,536
			Männer	0,240	0,167	0,029	1,579	1,045-2,385
33	rs111727905	Exon (3'UTR)	gesamt	0,349	0,304	0,009	1,230	1,053 -1,437
			Frauen	0,347	0,312	0,077	1,173	0,983-1,400
			Männer	0,357	0,281	0,037	1,424	1,022-1,986

Nr.	SNV	Lokalisation	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
34	rs768023	Nähe 5'UTR	gesamt	0,438	0,390	0,010	1,219	1,048 -1,418
			Frauen	0,440	0,399	0,057	1,181	0,995-1,401
			Männer	0,432	0,364	0,084	1,333	0,962-1,848
35	rs4317448	Intron	gesamt	0,208	0,170	0,010	1,288	1,061 -1,563
			Frauen	0,214	0,167	0,006	1,357	1,090-1,689
			Männer	0,184	0,177	0,826	1,049	0,684-1,609
36	rs9400241	Exon (3'UTR)	gesamt	0,343	0,299	0,011	1,226	1,049 -1,433
			Frauen	0,343	0,308	0,074	1,175	0,985-1,402
			Männer	0,345	0,274	0,053	1,391	0,995-1,944
37	rs6911407	Nähe 5'UTR	gesamt	0,438	0,390	0,011	1,217	1,047 -1,416
			Frauen	0,438	0,399	0,063	1,176	0,991-1,395
			Männer	0,437	0,365	0,072	1,349	0,973-1,869
38	rs13217795	Intron	gesamt	0,348	0,303	0,011	1,228	1,048 -1,438
			Frauen	0,352	0,311	0,041	1,204	1,008-1,439
			Männer	0,332	0,280	0,161	1,279	0,906-1,805
39	rs4946930	Intron	gesamt	0,185	0,150	0,013	1,281	1,053 -1,558
			Frauen	0,186	0,148	0,015	1,318	1,054-1,647
			Männer	0,178	0,157	0,470	1,167	0,767-1,774
40	rs1268170	Nähe 3'UTR	gesamt	0,403	0,346	0,014	1,271	1,050 -1,539
			Frauen	0,406	0,354	0,044	1,248	1,006-1,549
			Männer	0,389	0,324	0,173	1,329	0,882-2,004
41	rs9400240	Intron	gesamt	0,336	0,294	0,015	1,220	1,038 -1,433
			Frauen	0,336	0,301	0,079	1,177	0,981-1,412
			Männer	0,336	0,272	0,086	1,356	0,957-1,921
42	rs2802290	Intron	gesamt	0,439	0,394	0,016	1,204	1,035 -1,400
			Frauen	0,439	0,404	0,101	1,154	0,973-1,369
			Männer	0,437	0,362	0,061	1,365	0,985-1,892
43	rs479744	Nähe 3'UTR	gesamt	0,235	0,199	0,017	1,243	1,039 -1,488
			Frauen	0,237	0,206	0,079	1,199	0,979-1,467
			Männer	0,230	0,178	0,106	1,382	0,933-2,048
44	rs7754626	Intron	gesamt	0,190	0,157	0,019	1,260	1,039 -1,529
			Frauen	0,191	0,154	0,019	1,301	1,044-1,622
			Männer	0,186	0,167	0,531	1,141	0,755-1,725
45	rs9384679	Nähe 5'UTR	gesamt	0,430	0,385	0,021	1,207	1,029 -1,415
			Frauen	0,432	0,396	0,108	1,160	0,968-1,389
			Männer	0,426	0,355	0,087	1,348	0,957-1,900
46	rs531111	Nähe 3'UTR	gesamt	0,209	0,173	0,022	1,262	1,034 -1,540
			Frauen	0,215	0,180	0,050	1,250	0,100-1,562
			Männer	0,182	0,152	0,354	1,236	0,789-1,936
47	rs1575676	Nähe 5'UTR	gesamt	0,426	0,382	0,025	1,201	1,023 -1,411
			Frauen	0,429	0,393	0,108	1,160	0,968-1,391
			Männer	0,414	0,350	0,126	1,311	0,927-1,856
48	rs1268177	Nähe 3'UTR	gesamt	0,381	0,339	0,031	1,198	1,017 -1,412
			Frauen	0,378	0,353	0,261	1,112	0,924-1,340
			Männer	0,394	0,300	0,020	1,520	1,068-2,163
49	rs730167	Nähe 3'UTR	gesamt	0,179	0,148	0,035	1,256	1,016 -1,553
			Frauen	0,178	0,148	0,069	1,250	0,982-1,591
			Männer	0,182	0,148	0,280	1,280	0,817-2,007
50	rs2207731	Nähe 3'UTR	gesamt	0,386	0,345	0,038	1,190	1,010 -1,403
			Frauen	0,381	0,360	0,335	1,096	0,910-1,320
			Männer	0,403	0,303	0,014	1,551	1,090-2,207
51	rs9480865	Intron	gesamt	0,186	0,157	0,039	1,229	1,010 -1,495
			Frauen	0,186	0,153	0,037	1,268	1,014-1,585
			Männer	0,183	0,167	0,593	1,120	0,738-1,700
52	rs3778588	Intron	gesamt	0,187	0,158	0,039	1,228	1,010 -1,494
			Frauen	0,188	0,157	0,054	1,244	0,996-1,553
			Männer	0,181	0,159	0,455	1,173	0,772-1,783
53	rs13220810	Intron	gesamt	0,227	0,262	0,040	0,828	0,691 -0,9914
			Frauen	0,228	0,259	0,099	0,841	0,684-1,033
			Männer	0,227	0,271	0,224	0,790	0,541-1,155

Nr.	SNV	Lokalisation	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
54	rs1268165	Nähe 3'UTR	gesamt	0,384	0,345	0,040	1,186	1,007 -1,397
			Frauen	0,380	0,359	0,339	1,095	0,910-1,317
			Männer	0,400	0,303	0,016	1,535	1,081-2,179

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

Im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie konnten nochmals vorherige signifikante Assoziationsbefunde für den Phänotyp Langlebigkeit in der untersuchten deutschen Population bestätigt werden. Dabei waren 18 SNVs von 21 SNVs, die zuvor jeweils in den Dänen (Soerensen et al., 2010), Amerikanern japanischer Herkunft (Willcox et al., 2008a), Südtalienern (Anselmi et al., 2009), Han-Chinesen (Li et al., 2009c), Aschkenazi-Juden (Pawlikowska et al., 2009) und der deutschen Population (Flachsbart et al., 2009) getestet wurden, signifikant mit Langlebigkeit in der deutschen Subpopulation (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) assoziiert (Tabelle 4-13).

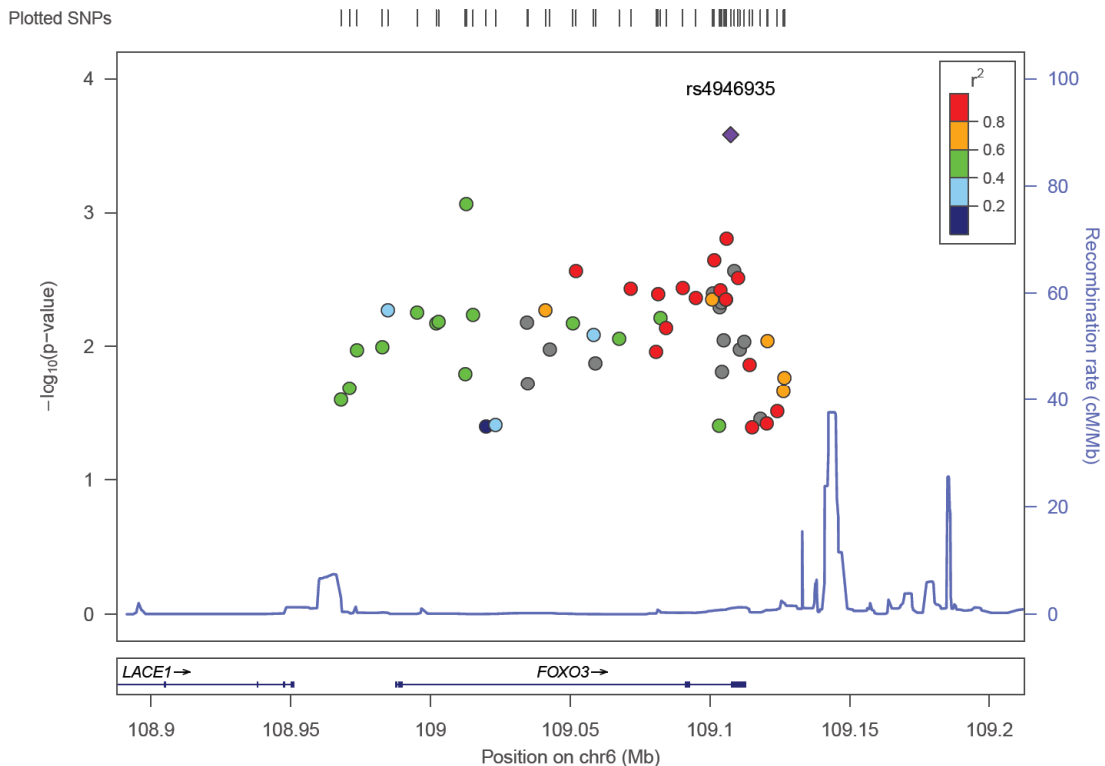


Abbildung 4-6: Assoziationsbefunde für 54 signifikante SNVs in der FOXO3A-Genregion (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Die schematische Darstellung erfolgte mit *Locuszoom*.

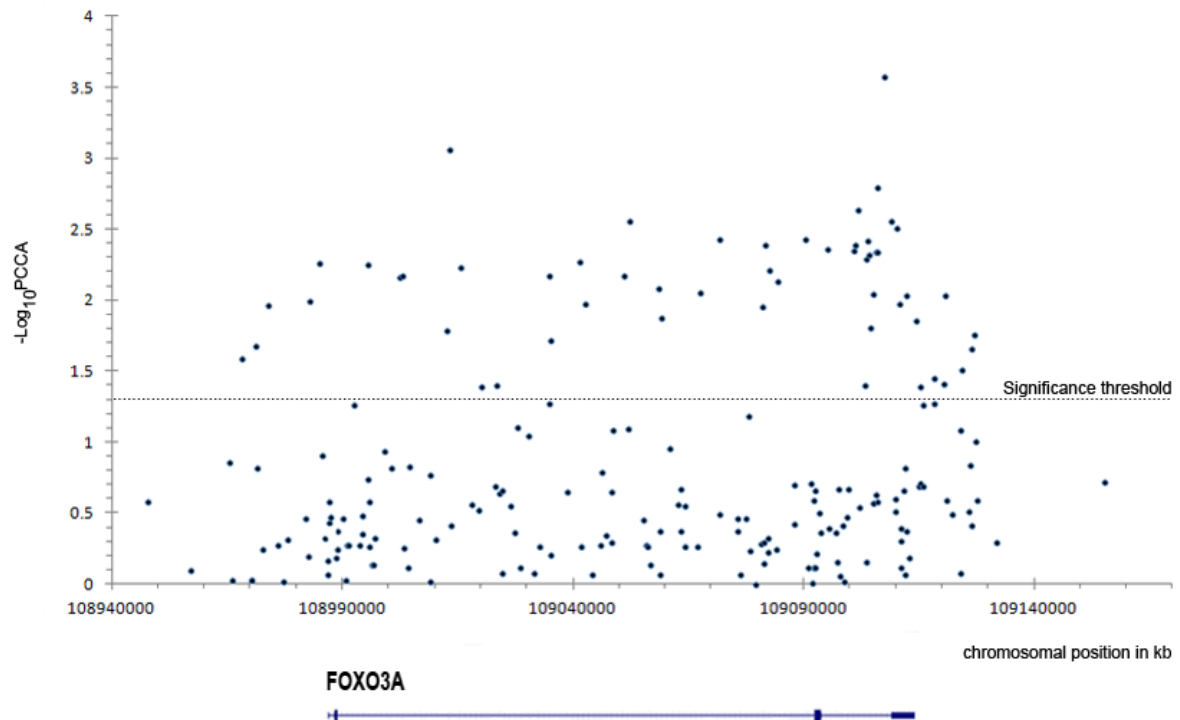


Abbildung 4-7: Assoziationsergebnisse für alle getesteten 205 SNVs in der FOXO3A-Genregion auf Chromosom 6 (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen). PCCA= allelische p-Werte die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden; $-\text{Log}_{10}\text{PCCA}$ = negativer dekadischer Logarithmus der allelischen p-Werte

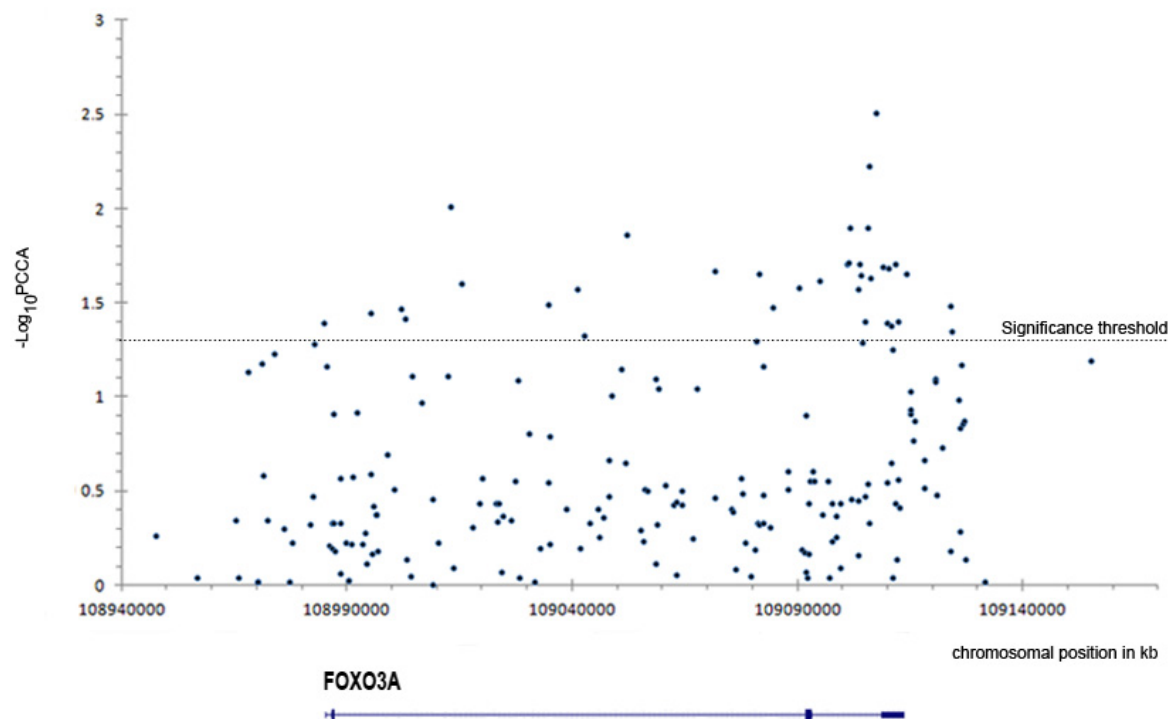


Abbildung 4-8: Assoziationsergebnisse für alle getesteten 205 SNVs in der FOXO3A-Genregion auf Chromosom 6 (1.109 LLI ≥ 95 Jahre und 918 jüngere Kontrollen). PCCA= allelische p-Werte die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden; $-\text{Log}_{10}\text{PCCA}$ = negativer dekadischer Logarithmus der allelischen p-Werte

4.3.5 *In silico* Analysen von *FOXO3A*-SNVs

4.3.5.1 Suche nach SNVs mit potentiell funktionellen Effekten

Unter Anwendung von drei Sequenzierungstechnologien (SOLiD, Illumina und Sanger) wurden 11 SNVs in Exon 2 und 3 detektiert. Sechs von diesen 11 SNVs waren *non-synonymous* SNVs. Für diese sechs SNVs wurden folgende bioinformatische Tools für eine Vorhersage von möglichen potentiellen Effekten angewandt: SIFT (Kumar et al., 2009), Polyphen2 (Adzhubei et al., 2010), PMut (Ferrer-Costa et al., 2005), SNAP (Bromberg and Rost, 2007), SNPs & Go (Calabrese et al., 2009) und MutPred (Li et al., 2009a). Von den sechs analysierten SNVs zeigte keines der hier genannten Tools mit hoher Verlässlichkeit einen möglichen Effekt an (Tabelle 8-11, Anhang). Mittels Mutationtaster (Schwarz et al., 2010) und PhyloP (Pollard et al., 2010) wurden vier SNVs im nicht-kodierenden Exon 4 mit den stärksten Assoziationssignalen untersucht ($p < 0,01$). Ziel war es, den Grad der DNA-Konservierung für diese Region zu bestimmen und mögliche funktionelle Effekte auf das Spleißing zu identifizieren. Für diese vier SNVs im nicht-kodierenden Exon 4 wurden keine möglichen funktionellen Effekte trotz identifizierter hoch konservierter Bereiche gefunden (Daten nicht aufgeführt).

4.3.5.2 Detektion von *FOXO3A*-SNVs in potentiell relevanten Transkriptionsfaktor-Bindestellen

Für alle signifikant assoziierten 54 SNVs ($p < 0,05$) im *FOXO3A*-Gen wurde unter Anwendung von sTRAP, HaploReg v2 und RegulomeDB nach möglichen Transkriptionsfaktor-Bindestellen gesucht. Mittels sTRAP konnten anhand der errechneten p-Werte und *log affinity values* unterschiedliche Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten für das Referenzallel und das seltene Allel aufgezeigt werden (Thomas-Chollier et al., 2011). HaploReg v2 und RegulomeDB dienten zur weiteren Bestätigung der vorhergesagten Befunde mittels sTRAP. Der SNV, der in der Subpopulation (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) den besten allelischen p-Wert aufwies (rs4946935; G>A; $p < 0,0003$), zeigte auch in der bioinformatischen Analyse zu potentiellen Transkriptionsfaktor-Bindestellen die besten Ergebnisse und p-Werte: Mittels HaploReg v2, RegulomeDB und sTRAP wurde für das seltene A-Allel eine Bindestelle für den Transkriptionsfaktor SRF identifiziert. Zusätzlich konnten stark unterschiedliche Bindestellenaffinitäten für den Transkriptionsfaktor PDX1 für das G-Allel vorhergesagt werden (Abbildung 4-9). Aufgrund dieser Vorhersagen wurde dieser SNV im Folgenden in funktionellen Studien untersucht.

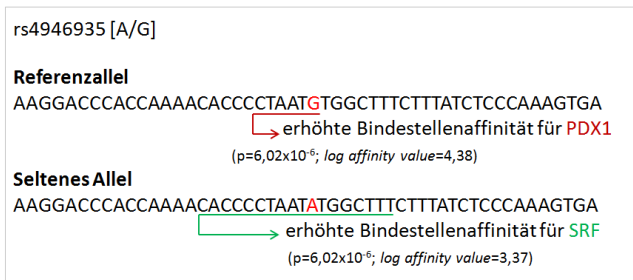


Abbildung 4-9: Schematische Darstellung von Transkriptionsfaktor-Bindestellen für SRF und PDX1 in Anlehnung an die vorhergesagten Bindestellenaffinitäten mittels sTRAP (http://trap.molgen.mpg.de/cgi-bin/trap_two_seq_form.cgi).

4.3.6 Replikationsstudien

Zur Validierung der gefundenen Assoziationssignale im *FOXO3A*-Gen wurden Replikationsstudien in der französischen Studienpopulation durchgeführt. Es wurden drei SNVs getestet (rs4946935, rs12206094 und rs2802288). Zwei der drei SNVs (rs4946935, rs12206094) zeigten die stärksten Assoziationssignale in der deutschen Studienpopulation (Tabelle 4-13). Der dritte SNV (rs2802288) wurde ausgewählt, da dieser SNV in starkem LD ist mit rs2802292, der in einer vorherigen Studie mit verringerten Nüchterninsulin-Konzentrationen und einer verbesserten Insulinsensitivität assoziiert war und somit von funktioneller Relevanz sein könnte (Banasik et al., 2011).

Alle drei SNVs zeigten keine signifikante Abweichung vom HWE in der französischen Kontrollstichprobe ($p_{\text{HWE}} \geq 0,001$) und wurden deshalb vollzählig in der Fall-Kontroll-Assoziationsanalyse berücksichtigt. In der französischen Studienpopulation konnten die Assoziationsbefunde für alle drei *FOXO3A*-SNVs repliziert werden ($p < 0,05$) (Tabelle 4-14). Das stärkste Assoziationssignal wurde dabei für rs2802288 beobachtet. Die Assoziationsbefunde für diesen SNV waren auch nach Korrektur für multiples Testen noch statistisch signifikant. Signifikante p-Werte wurden für zwei der drei SNVs (rs2802288 und rs12206094) ebenfalls in der Subgruppe von französischen LLI ≥ 100 Jahren beobachtet (Tabelle 8-12, Anhang). Die Allelfrequenzen und die Odds Ratios für das jeweilige seltene Allel der drei *FOXO3A*-SNVs zeigten im Vergleich zur deutschen Studienpopulation einen ähnlichen Trend (Tabelle 4-13). In einer geschlechtsspezifischen Analyse wurde trotz der geringen Stichprobengröße bei Männern (232 LLI ≥ 90 Jahren und 725 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) eine signifikante Assoziation für alle drei *FOXO3A*-SNVs gefunden (Tabelle 4-14), während in der Subgruppe der Frauen nur rs2802288 einen nominell signifikanten p-Wert gezeigt hat. In der Subgruppe der Männer wurden – wie auch in der deutschen Studienpopulation – die höheren Odds Ratios beobachtet.

Tabelle 4-14: Assoziationsbefunde für drei *FOXO3A*-SNVs in der französischen Replikationsstichprobe. Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die gesamte Studienpopulation (1.264 LLI \geq 90 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) sowie die Subgruppe der Männer (232 LLI \geq 90 Jahre und 725 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) und Frauen (1.032 LLI \geq 90 Jahre und 1.105 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren). Die SNV-Genotypisierung erfolgte mittels Sequenom.

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs2802288 *	gesamt	0,439	0,393	0,0004	1,207	1,088-1,339
		Frauen	0,432	0,392	0,009	1,179	1,042-1,334
		Männer	0,467	0,395	0,005	1,343	1,090-1,654
2	rs12206094	gesamt	0,326	0,294	0,008	1,160	1,040-1,295
		Frauen	0,317	0,291	0,064	1,131	0,993-1,289
		Männer	0,364	0,298	0,008	1,345	1,079-1,677
3	rs4946935	gesamt	0,324	0,297	0,022	1,136	1,018-1,268
		Frauen	0,318	0,294	0,094	1,118	0,981-1,274
		Männer	0,355	0,302	0,032	1,273	1,020-1,589

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

* die SNV-Genotypisierung erfolgte mittels TaqMan für 1.274 LLI \geq 90 Jahre und 1.848 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren (gesamte Studienpopulation); die Subgruppe der Männer umfasste 246 LLI \geq 90 Jahre und 736 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren und die Subgruppe der Frauen insgesamt 1.028 LLI \geq 90 Jahre und 1.112 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren

4.3.7 Funktionelle Studien

4.3.7.1 Untersuchung genotypabhängiger Effekte auf die *FOXO3A*-Genexpression

In Modellorganismen wurde gezeigt, dass eine verstärkte *FOXO3A*-Genexpression mit einer Erhöhung der Lebensspanne einhergeht (Bansal et al., 2014; Giannakou et al., 2004; Hwangbo et al., 2004). Dies könnte auch beim Menschen der Fall sein. Daher wurde getestet, ob die beiden Allele für den SNV, der die stärkste Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit aufgewiesen hat (rs4946935), im unterschiedlichen Maße die *FOXO3A*-Genexpression beeinflussen. Dazu wurden die *FOXO3A* mRNA-Level über einen *FOXO3A*-spezifischen TaqMan Genexpressions-Assay in 123 lymphblastoiden Zelllinien gemessen, die von den Blutproben unverwandter und gesunder Probanden gewonnen worden sind (Nebel et al., 2009). Nach einer multivariaten Analyse unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der *FOXO3A* mRNA-Level für die beiden SNV-Allele gefunden (p=0,386).

4.3.7.2 Untersuchung von gewebe- und zelltypspezifischen Genexpressionsmustern

Um die *in silico* Befunde für die beiden identifizierten Transkriptionsfaktor-Bindestellen von SRF und PDX1 an die *FOXO3A*-spezifische Sequenz mit dem Referenzallel und dem seltenen Allel von rs4946935 zu überprüfen, wurden zunächst die Genexpressionsmuster von *SRF*, *PDX1* und *FOXO3A* in verschiedenen humanen Geweben und Zelllinien erfasst. Dabei zeigte sich, dass alle drei Gene verstärkt im Pankreasgewebe und Pankreaskarzinomzellen (engl. *pancreatic adenocarcinoma cell lines*, Panc1) exprimiert werden (Abbildung 4-10).



Abbildung 4-10: Genexpressionsmuster von *SRF*, *PDX1* und *FOXO3A* in verschiedenen Geweben und Zelllinien. Die Expression von *GAPDH* diente als Kontrolle. Universal= Mix von 20 verschiedenen humanen Geweben; HT-29 = humane Kolon-Karzinomzellen, engl. *human colon adenocarcinoma cell line*; Jurkat = humane akute lymphozytische Leukämie-Zelllinie, engl. *human acute lymphocytic leukemia cell line*; panc1= humane Pankreas-Karzinomzellen, engl. *human pancreatic epithelioid carcinoma cell line*; HEK= humane embryonale Nierenzellen, engl. *human embryonic kidney cell line*; HeLa= humane Zervixkarzinom-Zelllinie (engl. *human epithelial carcinoma cell line*)

4.3.7.3 Untersuchung allelspezifischer Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten mittels *Supershift-Assay*

Zur Validierung der *in silico* Befunde für rs4946935 wurden im Folgenden Supershift-Assays in menschlichen Zelllinien (Jurkat, HeLa und Panc1) mit verstärkter SRF- und PDX1-Expression durchgeführt, um die unterschiedlichen Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten zwischen Referenzallel (G) und dem seltenen Allel (A) zu testen. Mittels Supershift-Assays konnten die vorgeschagten Bindestellenaffinitäten für PDX1 am G-Allel von rs4946935 in panc1-Zellen bestätigt werden (Abbildung 4-11).

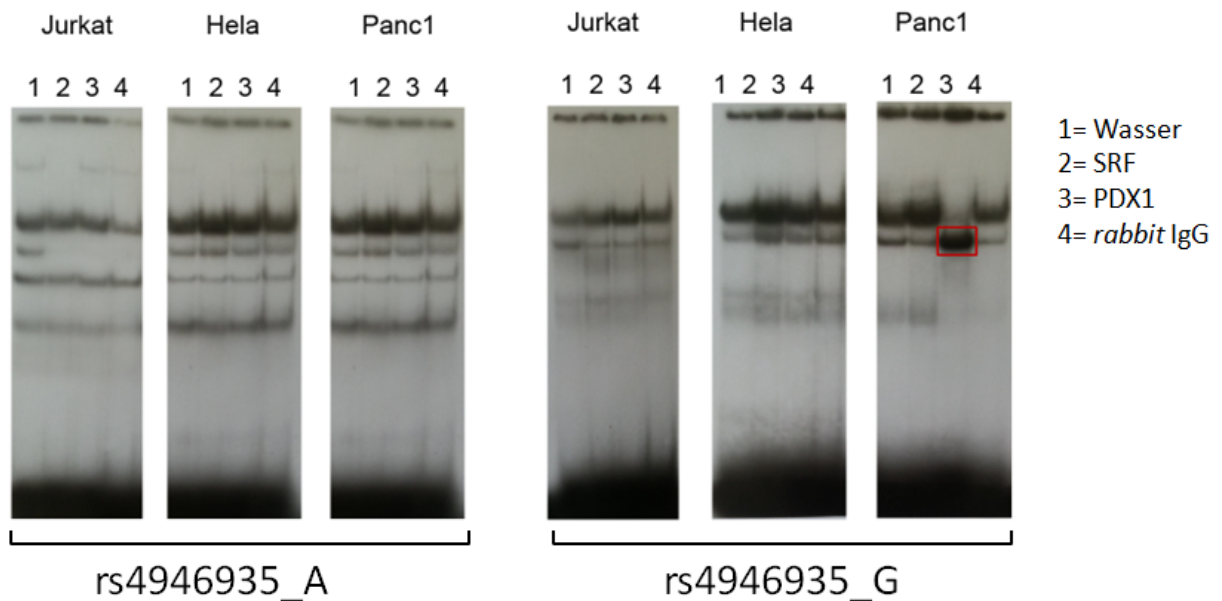


Abbildung 4-11: Supershift-Assays zur Untersuchung von Transkriptionsfaktor-Bindestellen für SRF und PDX1 an einer *FOXO3A*-spezifischen Sequenz mit dem A- oder G-Allel von rs4946935.

4.4 Genomweite SNV-Chip-basierte Assoziationsanalysen

4.4.1 Auswahl von 18 SNVs für Replikationsstudien

Um neue Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen zu identifizieren, wurden im Rahmen der ImmunoChip-Analyse ca. 200.000 SNVs in 1.463 LLI ≥ 94 Jahre und 6.464 jüngeren Kontrollen getestet. Auf der Grundlage der zuvor festgelegten Selektionskriterien ($p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$, $r^2 > 0,5$, kb=250) wurden 18 SNVs mit einer MAF $> 0,01$ ausgewählt, die sowohl innerhalb als auch außerhalb von Genregionen lokalisiert waren (Tabelle 4-15). Besonders auffällig war dabei ein SNV in *RAD50* (engl. *radiation sensitive*, *Saccharomyces cerevisiae* homolog) (rs2706372), da für diesen SNV eine Vielzahl weiterer LD-SNVs innerhalb der Genregion ein statistisch signifikantes Assoziationssignal zeigten (Abbildung 4-12).

In einer geschlechtsspezifischen Analyse konnten die signifikanten Assoziationssignale (mit Ausnahme von rs375241) in der Subgruppe der Frauen bestätigt werden. Trotz der geringeren Stichprobengröße in der Subgruppe der Männer zeigten sechs SNVs (rs4788567, rs4788547, rs4804633, rs375241, rs912128, rs10500560) ebenfalls nominell signifikante p-Werte (Tabelle 4-15).

Tabelle 4-15: Assoziationsergebnisse von 18 ausgewählten SNVs im Rahmen der Immunochip-Analyse. Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die gesamte Studienpopulation (1.463 LLI \geq 94 Jahre und 6.464 Kontrollen) sowie die Subgruppe der Frauen (1.073 LLI \geq 94 Jahre und 3.241 Kontrollen) und Männer (390 LLI \geq 94 Jahre und 3.223 Kontrollen). Die SNVs sind entsprechend der jeweiligen beobachteten p-Werte aufgeführt.

Nr.	SNV	Position	Lokalisation	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs9469857	6p21.31	außerhalb der Genregion	gesamt	0,393	0,336	6,18E-09	1,279	1,177-1,390
				Frauen	0.4067	0.3436	1.46E-07	1.310	1.184-1.448
				Männer	0.353	0.328	0.1513	1.122	0.959-1.312
2	rs11078576	17p13.2	außerhalb der Genregion	gesamt	0,485	0,437	2,33E-06	1,214	1,120-1,315
				Frauen	0.495	0.428	7.90E-08	1.307	1.185-1.442
				Männer	0.458	0.445	0.5182	1.050	0.905-1.22
3	rs4788567	16q22.2	außerhalb der Genregion	gesamt	0,272	0,313	1,24E-05	0,819	0,749-0,896
				Frauen	0.276	0.308	0.0046	0.855	0.767-0.953
				Männer	0.262	0.318	0.0012	0.758	0.641-0.897
4	rs39536	16q24.1	FENDRR (Intron)	gesamt	0,325	0,368	1,33E-05	0,828	0,760-0,901
				Frauen	0.315	0.363	4.88E-05	0.806	0.726-0.894
				Männer	0.353	0.372	0.2851	0.919	0.787-1.073
5	rs907875	17p13.2	außerhalb der Genregion	gesamt	0,293	0,335	1,46E-05	0,824	0,755-0,900
				Frauen	0.286	0.344	5.59E-07	0.762	0.685-0.848
				Männer	0.315	0.326	0.5369	0.951	0.810-1.116
6	rs4788547	16q22.2	außerhalb der Genregion	gesamt	0,308	0,347	4,92E-05	0,836	0,767-0,912
				Frauen	0.311	0.343	0.0079	0.868	0.781-0.963
				Männer	0.299	0.352	0.0030	0.784	0.667-0.921
7	rs4804633	19p13.2	ZNF833P (Intron)	gesamt	0,344	0,306	5,43E-05	1,191	1,094-1,297
				Frauen	0.339	0.305	0.0026	1.173	1.057-1.301
				Männer	0.356	0.307	0.0045	1.253	1.072-1.464
8	rs41280278	20q13.12	ZNF335 (Intron)	gesamt	0,055	0,038	2,05E-05	1,484	1,236-1,782
				Frauen	0.059	0.038	2.37E-05	1.601	1.285-1.996
				Männer	0.044	0.038	0.4182	1.163	0.806-1.679
9	rs375241	17q11.2	ASIC2 (Intron)	gesamt	0,275	0,241	9,24E-05	1,198	1,094-1,312
				Frauen	0.270	0.250	0.0692	1.108	0.992-1.238
				Männer	0.290	0.231	0.0003	1.358	1.151-1.601
10	rs77048564	4p15.2	außerhalb der Genregion	gesamt	0,045	0,031	9,59E-05	1,488	1,217-1,819
				Frauen	0.047	0.029	3.40E-05	1.678	1.311-2.149
				Männer	0.040	0.033	0.3131	1.218	0.830-1.789
11	rs8130757	21q21.1	außerhalb der Genregion	gesamt	0,022	0,013	0,0001	1,762	1,316-2,360
				Frauen	0.023	0.014	0.0019	1.733	1.221-2.461
				Männer	0.018	0.011	0.1198	1.574	0.885-2.800
12	rs2706372	5q31.1	RAD50 (Intron)	gesamt	0,256	0,224	0,0002	1,190	1,084-1,305
				Frauen	0.257	0.221	0.0007	1.218	1.087-1.364
				Männer	0.254	0.228	0.1012	1.154	0.972-1.370

Nr.	SNV	Position	Lokalisation	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
13	rs6065921	20q13.12	NCOA5 (Intron)	gesamt	0,217	0,186	0,0001	1,211	1,097-1,336
				Frauen	0.225	0.189	0.0003	1.248	1.108-1.405
				Männer	0.194	0.183	0.4736	1.071	0.887-1.294
14	rs912128	13q32.3	außerhalb der Genregion	gesamt	0,117	0,095	0,0002	1,267	1,116-1,439
				Frauen	0.118	0.101	0.0263	1.190	1.021-1.388
				Männer	0.114	0.088	0.0179	1.330	1.050-1.686
15	rs45521633	20q13.12	außerhalb der Genregion	gesamt	0,058	0,042	0,0001	1,408	1,180-1,680
				Frauen	0.065	0.042	2.69E-05	1.563	1.267-1.929
				Männer	0.041	0.042	0.8936	0.975	0.671-1.417
16	rs10500560	16q22.2	PHLPP2 (3'UTR)	gesamt	0,307	0,274	0,0004	1,172	1,074-1,279
				Frauen	0.304	0.272	0.0040	1.170	1.051-1.302
				Männer	0.315	0.277	0.0234	1.204	1.025-1.414
17	rs76926652	20q13.12	außerhalb der Genregion	gesamt	0,255	0,225	0,0004	1,182	1,077-1,297
				Frauen	0.263	0.229	0.0011	1.205	1.077-1.348
				Männer	0.232	0.220	0.4491	1.070	0.897-1.277
18	rs10888637	1p33	AGBL4 (Intron)	gesamt	0,059	0,044	0,0005	1,362	1,144-1,623
				Frauen	0.062	0.045	0.0016	1.404	1.136-1.736
				Männer	0.053	0.044	0.2514	1.217	0.870-1.704

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

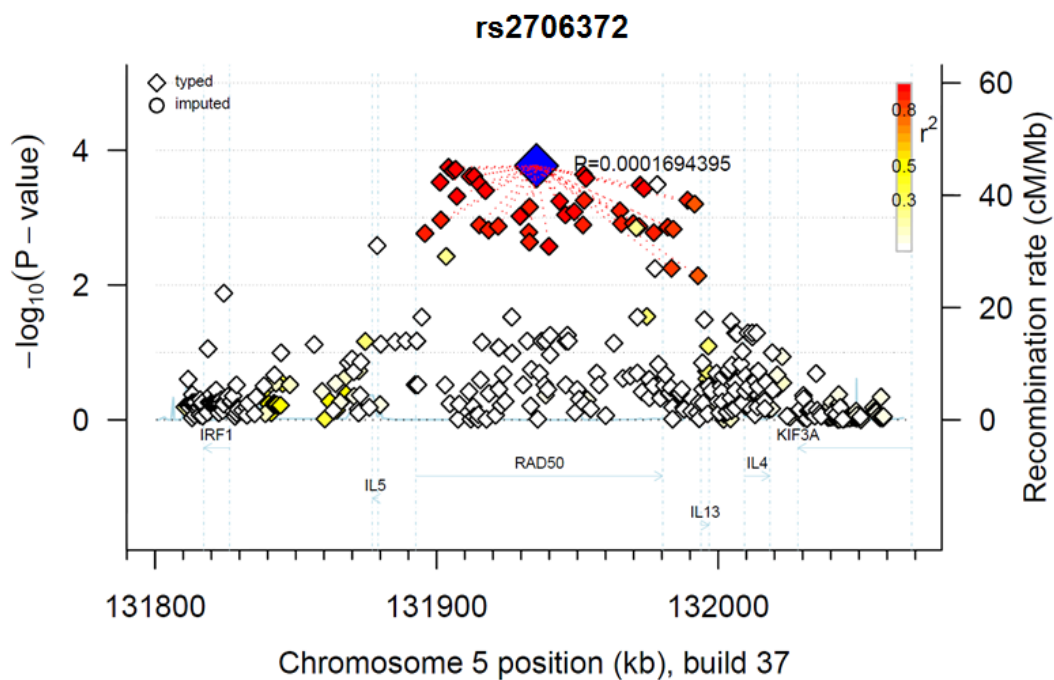


Abbildung 4-12: Assoziationsergebnisse für SNVs in der *RAD50*-Genregion im Rahmen der ImmunoChip-Analyse.

4.4.2 Replikationsstudien

Es wurden alle 18 SNVs, die im Rahmen der Immunochip-Analyse ausgewählt wurden, in der französischen Replikationsstichprobe getestet. Keine der 18 getesteten SNVs zeigte eine signifikante Abweichung vom HWE in der Kontrollstichprobe ($p_{\text{HWE}} \geq 0,001$). In der französischen Studienpopulation konnten die Assoziationsbefunde für drei SNVs repliziert werden ($p < 0,05$) (rs907875, rs77048564, rs2706372) (Tabelle 4-16). Das stärkste Assoziationssignal wurde dabei für den rs2706372 im *RAD50*-Gen beobachtet. Dieser SNV zeigte als einzige Genvariante ebenfalls in der Subgruppe von LLI ≥ 100 Jahren eine signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit ($p < 0,05$) (Tabelle 8-13, Anhang). Das *RAD50*-Gen spielt eine zentrale Rolle bei der DNA-Reparatur und könnte somit ein potentiell neues Kandidatengen für Langlebigkeit darstellen (Hopfner et al., 2002; Kinoshita et al., 2009).

In einer geschlechtsspezifischen Analyse waren vier SNVs lediglich in der Subgruppe der Frauen (1.032 LLI ≥ 90 Jahren und 1.105 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) statistisch signifikant (rs11078576, rs907875, rs77048564, rs2706372) ($p < 0,05$) (Tabelle 4-16). Drei dieser vier signifikanten SNVs zeigten ebenfalls in der Gesamtpopulation eine Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit (rs907875, rs77048564, rs2706372). Die Allelfrequenzen für den rs77048564 waren jedoch gegenläufig in der deutschen und französischen Stichprobe. Während in der deutschen Population das seltene Allel häufiger in den LLI detektiert wurde (0,045 vs. 0,031), kam es in der französischen Population häufiger in der Kontrollstichprobe vor (0,019 vs. 0,027).

Tabelle 4-16: Assoziationsbefunde für die 18 ausgewählten SNVs in der französischen Replikationsstichprobe. Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervall für die gesamte Studienpopulation (1.264 LLI ≥ 90 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) sowie die Subgruppe der Männer (232 LLI ≥ 90 Jahre und 725 Kontrollen) und Frauen (1.032 LLI ≥ 90 Jahre und 1.105 Kontrollen).

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs9469857	gesamt	0,340	0,346	0,608	0,972	0,874-1,082
		Frauen	0,346	0,349	0,790	0,983	0,867-1,115
		Männer	0,316	0,342	0,306	0,890	0,711-1,113
2	rs11078576	gesamt	0,438	0,414	0,061	1,103	0,995-1,222
		Frauen	0,442	0,405	0,013	1,166	1,033-1,317
		Männer	0,420	0,429	0,747	0,966	0,782-1,193
3	rs4788547	gesamt	0,302	0,296	0,618	1,029	0,921-1,149
		Frauen	0,302	0,286	0,269	1,077	0,9441-1,23
		Männer	0,303	0,311	0,754	0,964	0,768-1,21
4	rs39536	gesamt	0,342	0,332	0,414	1,046	0,939-1,164
		Frauen	0,342	0,345	0,884	0,991	0,873-1,124
		Männer	0,341	0,313	0,270	1,133	0,907-1,414

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
5	rs907875	gesamt	0,326	0,353	0,033	0,890	0,799-0,991
		Frauen	0,325	0,360	0,015	0,855	0,753-0,971
		Männer	0,334	0,341	0,772	0,968	0,776-1,208
6	rs4788567	gesamt	0,281	0,276	0,681	1,024	0,914-1,147
		Frauen	0,284	0,275	0,506	1,046	0,915-1,196
		Männer	0,265	0,277	0,610	0,940	0,743-1,191
7	rs4804633	gesamt	0,297	0,295	0,874	1,009	0,903-1,128
		Frauen	0,296	0,295	0,926	1,006	0,882-1,148
		Männer	0,300	0,295	0,848	1,023	0,813-1,286
8	rs41280278*	gesamt	0,050	0,048	0,650	1,056	0,835-1,336
		Frauen	0,050	0,046	0,526	1,096	0,825-1,456
		Männer	0,053	0,051	0,866	1,040	0,657-1,647
9	rs375241	gesamt	0,217	0,227	0,386	0,947	0,838-1,070
		Frauen	0,216	0,229	0,311	0,928	0,803-1,072
		Männer	0,224	0,223	0,975	1,004	0,781-1,290
10	rs77048564	gesamt	0,019	0,027	0,035	0,689	0,487-0,9758
		Frauen	0,020	0,030	0,037	0,658	0,444-0,977
		Männer	0,015	0,023	0,279	0,638	0,281-1,449
11	rs8130757	gesamt	0,013	0,017	0,241	0,778	0,511-1,185
		Frauen	0,014	0,016	0,631	0,886	0,539-1,454
		Männer	0,011	0,019	0,219	0,553	0,212-1,441
12	rs2706372	gesamt	0,219	0,187	0,002	1,215	1,072-1,378
		Frauen	0,219	0,190	0,019	1,195	1,030-1,387
		Männer	0,219	0,183	0,095	1,245	0,963-1,611
13	rs6065921	gesamt	0,185	0,189	0,693	0,974	0,855-1,110
		Frauen	0,185	0,194	0,432	0,940	0,807-1,096
		Männer	0,184	0,180	0,847	1,027	0,784-1,347
14	rs912128	gesamt	0,085	0,091	0,438	0,932	0,778-1,115
		Frauen	0,089	0,100	0,223	0,880	0,717-1,081
		Männer	0,067	0,077	0,486	0,864	0,572-1,305
15	rs45521633	gesamt	0,052	0,050	0,737	1,040	0,827-1,309
		Frauen	0,049	0,050	0,952	0,992	0,752-1,307
		Männer	0,065	0,051	0,260	1,285	0,830-1,991
16	rs10500560	gesamt	0,311	0,313	0,884	0,992	0,889-1,1070
		Frauen	0,310	0,324	0,328	0,938	0,824-1,067
		Männer	0,316	0,296	0,407	1,100	0,878-1,380
17	rs76926652	gesamt	0,229	0,231	0,796	0,984	0,873-1,110
		Frauen	0,226	0,240	0,278	0,924	0,802-1,065
		Männer	0,241	0,219	0,309	1,137	0,888-1,456
18	rs10888637	gesamt	0,042	0,042	0,877	0,980	0,761-1,262
		Frauen	0,040	0,046	0,344	0,867	0,645-1,166
		Männer	0,047	0,037	0,297	1,310	0,788-2,178

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

* die SNV-Genotypisierung erfolgte mittels TaqMan für 1.091 LLI ≥ 90 Jahre und 1.848 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren (gesamte Studienpopulation); die Subgruppe der Männer umfasste 246 LLI ≥ 90 Jahre und 736 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren und die Subgruppe der Frauen insgesamt 1.028 LLI ≥ 90 Jahre und 1.112 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren

5 Diskussion

5.1 Komplexität des Phänotyps Langlebigkeit

Im Rahmen dieser Arbeit wurde sowohl über Kandidatengenstudien (*SOD1*, *SOD2*, *SOD2*, *CETP* und *FOXO3A*) als auch mittels SNV-Chip-Technologie (ImmunoChip) nach neuen SNVs für Langlebigkeit beim Menschen gesucht. Über einen umfassenden *haplotype tagging* Ansatz wurden 19 SNVs in den *SODs* und 32 SNVs im *CETP*-Gen getestet. Unter Anwendung von drei verschiedenen Sequenzierungs-Technologien (SOLiD, Illumina und Sanger) wurden zudem sowohl häufige als auch seltene Varianten in *FOXO3A* detektiert und im Folgenden 205 ausgewählte *FOXO3A*-SNVs in der gesamten Studienpopulation typisiert. Im Vergleich zu den durchgeführten Kandidatengenstudien wurden mittels ImmunoChip genomweit sogar ca. 200.000 SNVs getestet. Trotz der Vielzahl an getesteten SNVs waren lediglich genetische Varianten mit geringen bis moderaten Effekten in der *CETP*-, *FOXO3A*-, und *RAD50*-Genregion mit dem Phänotyp Langlebigkeit assoziiert. Die assoziierten SNVs waren dabei jeweils nur in den intronischen Regionen oder außerhalb der Genregion lokalisiert und zeigten bis auf einen SNV (rs77048564) eine MAF von je $>0,05$. SNVs in kodierenden Regionen zeigten hingegen keine statistisch signifikanten Assoziationssignale.

Genetische Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen zu identifizieren, erweist sich oftmals als Herausforderung, da diese meist nur geringe bis moderate Effekte zeigen, die lediglich mittels einer hohen Stichprobengröße beobachtet werden können (Christensen et al., 2006; Kirkwood et al., 2011; Manolio et al., 2009; Sebastiani et al., 2012). Vermutlich trägt eine Vielzahl genetischer Varianten zum Phänotyp Langlebigkeit bei, die zudem über Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen zusätzlich in Wechselwirkung stehen, wodurch sich möglicherweise veränderte regulatorische Funktionen ableiten lassen (Christensen et al., 2006; Deelen et al., 2013a). Die polygenetische Architektur des Phänotyps Langlebigkeit wird dabei wahrscheinlich durch die allelische und Locus-Heterogenität geprägt (Pritchard and Cox, 2002; Wang and Huang, 2006). Dabei bestimmen vermutlich viele verschiedene genetische Varianten in einem Gen (allelische Heterogenität) und/oder in verschiedenen Genorten (Locus-Heterogenität) den Phänotyp. Häufige Varianten könnten somit auch als Marker fungieren, die trotz fehlender funktioneller Relevanz Hinweise auf seltene Varianten an einem oder mehreren Genorten geben (Kent, 2011).

Neben den genetischen Faktoren sind verstärkt Umweltfaktoren (z.B. Ernährung, Lebensstil) für die Variabilität in der Lebensspanne verantwortlich (Brooks-Wilson, 2013; Christensen et al., 2006). Umweltbedingte Faktoren nehmen dabei Einfluss auf die zugrundeliegenden biologischen Mechanismen, die sich z.B. auch nur in bestimmten Zelltypen oder Gewebearten zeigen können (Nikoletopoulou et al., 2014; Piccin and Morshead, 2010; Wu et al., 2013; Zhang and Liu, 2014). Hierbei erweist es sich als äußerst schwierig, die relevanten Zellen und Gewebeproben zur Erforschung von Langlebigkeit zu identifizieren und deren Verfügbarkeit unter Berücksichtigung von ethischen Fragestellungen zu gewährleisten (Seppet et al., 2011). Um die zentralen protektiven Mechanismen in den verschiedenen Zell- und Gewebetypen aufzuklären, sollte zudem überprüft werden, ob diese über einen langen Zeitraum bis zum Erreichen eines besonders hohen Alters von über 100 Jahren konstant bleiben oder im Laufe des Lebens durch Gen-Gen- oder Gen-Umwelt-Interaktionen verändert werden (de Magalhaes et al., 2012). Die Herausforderung besteht dabei jedoch, umweltbedingte Einflussfaktoren über einen solch langen Zeitraum zu standardisieren und konstant zu halten.

Die Identifizierung von genetischen und umweltbedingten Faktoren wird u.a. auch dadurch erschwert, dass verschiedene Klassifizierungen und Definitionen des Phänotyps Langlebigkeit beschrieben sind. Je nach Studiendesign (z.B. Querschnittsstudie vs. Längsschnittstudie) wird die Variabilität in der Lebensspanne beim Menschen z.B. durch das Alter bis zum Lebensende, die Überlebenswahrscheinlichkeit, die Anzahl krankheitsfreier Jahre oder durch das Erreichen eines besonders hohen Lebensalters definiert (Deelen et al., 2013a). Ziel ist es derzeit noch, geeignete und verlässliche Biomarker zu identifizieren, die es ermöglichen, die Morbidität und Mortalität von Individuen zu bestimmen und das Erreichen eines besonders hohen Lebensalters vorherzusagen (Johnson, 2006; Thompson and Voss, 2009). Dazu könnten metabolische Parameter wie z.B. IGF-1 (Arai et al., 2001; Rozing et al., 2009), Lipoproteinprofile (Barzilai et al., 2003; Newman et al., 2011), freies Trijodthyronin (Rozing et al., 2010), Adiponektin (Bik et al., 2006) und Kortisol (Noordam et al., 2012) ermittelt werden. Bei der Suche nach geeigneten Biomarkern können auch klinische Parameter (z.B. Blutdruck, Knochendichte etc.) über einen längeren Zeitraum gemessen oder über einen sogenannten physiologischen Index zusammengefasst werden, um zukünftige Aussagen über Morbidität und Mortalität machen zu können (Karasik et al., 2005; Newman et al., 2008). Allerdings wird dadurch nicht ersichtlich, welche Unterschiede lediglich auf einen unaufhaltsamen physiologischen Prozess mit zunehmendem Alter zurückzuführen sind oder ob diese tatsächlich ursächlich sind für die Variabilität in der Lebensspanne. Zudem könnten Änderungen in den gemessenen metabolischen oder auch klinischen Parametern

hauptsächlich durch Umweltfaktoren (z.B. Ernährung, Medikamente) begründet werden (Hausman et al., 2012).

5.2 Bedeutung von Kandidatengenstudien für die Langlebigkeitsforschung

Obwohl vermutet wird, dass eine Vielzahl an Genen die Variabilität in der Lebensspanne bestimmt, konnten beim Menschen über Kandidatengenstudien zunächst nur Assoziationsbefunde für genetische Varianten in *APOE* und *FOXO3A* in verschiedenen Populationen validiert werden (Blanche et al., 2001; Deelen et al., 2011; Flachsbar et al., 2009; Li et al., 2009c; Pawlikowska et al., 2009; Schachter et al., 1994; Soerensen et al., 2010; Soerensen et al., 2013; Willcox et al., 2008a). Über eine Vielzahl an durchgeführten GWAS wurden bisher lediglich genetische Varianten in *APOE* mit genomweiter Signifikanz identifiziert (Deelen et al., 2013b; Deelen et al., 2011; Murabito et al., 2012; Nebel et al., 2011; Sebastiani et al., 2010). Darüber hinaus wurde mittels einer Meta-GWAS ein weiterer Suszeptibilitätslocus auf 5q33.3 aufgezeigt (Deelen et al., 2014).

Aufgrund der in GWAS festgelegten sehr niedrigen p-Werte von $p \leq 10 \times 10^{-8}$ können hier für SNVs mit geringen oder moderaten Effekten nur erschwert statistisch signifikante Assoziationen entdeckt werden (Broer et al., 2014). Der Vorteil von Kandidatengenstudien gegenüber GWAS besteht darin, dass dadurch phänotypassoziierte Genvarianten detektiert werden können, die mittels GWAS unentdeckt bleiben. So erreichen Genvarianten mit geringen Effektgrößen in GWAS in der Regel keine genomweite Signifikanz, weil hierbei ein multiples Testen für mehrere hunderttausend Marker erfolgen muss (Sham and Purcell, 2014).

In Kandidatengenstudien können zudem gezielt SNVs in spezifischen und für Langlebigkeit interessanten Genregionen ausgewählt werden, die in GWAS durch die Anwendung kommerziell erhältlicher SNV-Chips teilweise gar nicht getestet werden. So wurden in der vorliegenden Arbeit über einen umfassenden *haplotype tagging* Ansatz und mittels DNA-Sequenzierung häufige und seltene SNVs in der gesamten Genregion von potentiellen Kandidatengen (*SOD*, *CETP*, *FOXO3A*) ausgewählt. Eine gezielte SNV-Auswahl ermöglicht es somit nicht nur Assoziationssignale innerhalb eines Gens zu beobachten, sondern auch bestimmte regulatorische Bereiche (z.B. Exon, Promotor) zu untersuchen, die möglicherweise von funktioneller Relevanz sein könnten (Pagani and Baralle, 2004; Sinnott et al., 2006).

5.3 Herausforderung bei der Replikation von Assoziationsbefunden in unabhängigen Studienpopulationen

Um sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Befunde zu minimieren, ist es notwendig, die gefundenen Assoziationen in einer unabhängigen Stichprobe zu replizieren (Daly and Day, 2001; Deelen et al., 2013a). Eine Vielzahl an Assoziationsbefunden in der Langlebigkeitsforschung konnte bisher jedoch trotz vergleichbarer Technologien aufgrund der polygenetischen und phänotypischen Komplexität nicht in anderen unabhängigen Populationen repliziert werden (Brooks-Wilson, 2013; Deelen et al., 2013a). Dies kann z.B. darauf beruhen, dass innerhalb der Kontroll- und Fallstichprobe verschiedene Populationen oder Ethnizitäten untersucht werden, die einen möglichen Effekt vortäuschen können, der nicht auf den Phänotyp Langlebigkeit verweist (Dato et al., 2004; Reich and Goldstein, 2001). Dieses Phänomen wird auch als Populationsstratifikation bezeichnet (Bauchet et al., 2007; Freedman et al., 2004; Nebel et al., 2005). Dadurch können sowohl falsch-positive als auch falsch-negative Assoziationsbefunde entstehen (Haldar and Ghosh, 2012; Li et al., 2010a). Obwohl die deutsche Bevölkerung keine starken genetischen Unterschiede zeigt (Steffens et al., 2006), wurde die hier untersuchte Studienpopulation dennoch hinsichtlich Ethnizität und regionaler Herkunft aufeinander abgestimmt, um diese Faktoren eine mögliche Störgröße zu vermeiden (Mann, 2003; Nebel et al., 2005).

In unterschiedlichen Populationen können zudem aufgrund von Gen-Gen- oder Gen-Umwelt-Interaktionen veränderte funktionelle Effekte von SNVs zugrundeliegen (Caliebe et al., 2010). Eine weitere Herausforderung bei der Replikation genetischer Assoziationsbefunde besteht somit darin, populationsspezifische Unterschiede zu minimieren (Choudhury et al., 2014; Lescai et al., 2009). Populationsspezifische Effekte könnten dabei verstärkt bei seltenen Varianten zum Tragen kommen und sich sogar in Populationen zeigen, die sich relativ ähnlich hinsichtlich ihrer Ethnizität sind (Moore et al., 2013).

Familienbasierte Kohorten sind weniger anfällig gegenüber Unterschieden in der Populationsstruktur (Deelen et al., 2013a). Allerdings erweist es sich hierbei als schwierig, eine ausreichend große Stichprobe zu erstellen. Populationsbasierte Studien haben hingegen den Vorteil, dass verhältnismäßig einfacher große Stichproben (LLI und jüngere Kontrollen) generiert werden können. Familien- und populationsbasierte Kohorten können Teil einer prospektiven oder retrospektiven Studie sein. Bei prospektiven Studien können über ein *Follow-up* von mehreren Jahren im Vergleich zu retrospektiven Fall-Kontroll-Studien

vermutlich mehr Hinweise auf die zugrundeliegende Kausalität geliefert werden (Deelen et al., 2013a). Nachteil ist dabei, dass bei einem solchen *Follow-up* meist nur wenige der beobachteten Individuen ein Alter von über 100 Jahren erreichen. Bei der Identifizierung von genetischen Suszeptibilitätsfaktoren ist jedoch – weder bei prospektiven noch bei retrospektiven Fall-Kontroll-Studien – nicht garantiert, dass es einen kausalen Zusammenhang zwischen diesen beiden Variablen gibt (z.B. statistisch signifikante genetische Variante und das Erreichen eines hohen Lebensalters).

Das jeweilige unterschiedliche Studiendesign (retrospektiv vs. prospektiv und populationsbasiert vs. familienbasiert) erschwert somit die Vergleichbarkeit der Assoziationsbefunde. Dies hängt u.a. auch damit zusammen, dass es schwierig ist, eine hohe Anzahl an LLI zu rekrutieren und Varianten mit moderaten Effekten (Odds ratio=1,4) in relativ kleinen Stichproben eher nicht detektiert werden können (Christensen et al., 2006; Manolio et al., 2009). Zudem können sich auch die Altersspanne und die Anzahl der Individuen in der Kontroll- und Fallstichprobe unterscheiden (Deelen et al., 2013a). In dieser Studie wurden LLI mit einem Alter von ≥ 95 ($n=1.612$) und ≥ 100 Jahren ($n=748$) in die Fallstichprobe einbezogen, um einen genetischen Effekt mit einer entsprechender statistischen Power von 80% zu detektieren. Dabei eignen sich v.a. LLI ≥ 100 Jahre, um die statistische Power zusätzlich zu erhöhen (Tan et al., 2008). Zudem stammten die Individuen in der Kontrollstichprobe von einer Geburtskohorte, für welche die zu erwartende Lebenserwartung innerhalb dieser Geburtskohorte nicht stark voneinander abweicht, um mögliche Assoziationsbefunde besser validieren zu können (Deelen et al., 2013a; Nygaard et al., 2014).

Somit erschweren die Heterogenität des Phänotyps sowie Populationsstratifikation und -spezifität die Identifizierung von SNVs, die mit Langlebigkeit assoziiert sind. Darüber hinaus können die bisherigen Assoziationsbefunde nur bedingt miteinander verglichen werden aufgrund von Unterschieden im Studiendesign (z.B. prospektiv vs. retrospektiv, geringe Stichprobengrößen, verschiedene Altersspannen).

5.4 Bewertung der in dieser Studie beobachteten genetischen Befunde

5.4.1 Keine statistisch signifikanten Assoziationsbefunde für SNVs in den

Superoxiddismutasen

Im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie wurden für die 19 getesteten *tagging* SNVs in den *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregionen keine signifikanten Assoziationsbefunde beobachtet – weder in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren) noch in der Subgruppe von LLI ≥ 100 Jahre ($p > 0,05$). Die Assoziation für den Phänotyp Langlebigkeit, die zuvor für einen *non-synonymous* SNV in *SOD2* (rs4880) in der dänischen Population sowie Aschkenazi-Juden aufgezeigt wurde (Soerensen et al., 2009; Stessman et al., 2005), konnte nicht in der untersuchten deutschen Population bestätigt werden. Dies kann damit zusammenhängen, dass die jüdische Studienpopulation eine andere Ethnizität repräsentiert, die zudem wesentlich kleiner und auch jünger war im Vergleich zur deutschen Population (Tabelle 4-2) (Stessman et al., 2005). Obwohl die deutsche und die dänische Population ähnlich sind in Bezug auf Stichprobengröße, Altersspanne und Ethnizität, können Unterschiede im Studiendesign (prospektive Längsschnittstudie in den Dänen vs. retrospektive Querschnittsstudie in den Deutschen) zu den unterschiedlichen Assoziationsbefunden geführt haben (Soerensen et al., 2009). Zusätzlich könnten Gen-Umwelt-Interaktionen populationsspezifische Effekte induzieren (Caliebe et al., 2010).

Obwohl in der vorliegenden Studie die notwendige Teststärke durch die hohe Anzahl an Individuen in der Fall- und Kontrollstichprobe durchaus gegeben war, konnten keine statistisch signifikanten Assoziationsbefunde für SNVs in den *SODs* detektiert werden. Die negativen Assoziationsbefunde sind möglicherweise auch durch das unterschiedliche Studiendesign bedingt (Soerensen et al., 2009). Prospektive Längsschnittstudien sind im Vergleich zu der hier durchgeführten retrospektiven Querschnittsstudie sensitiver, um Assoziationen für den Phänotyp Langlebigkeit aufzudecken (Deelen et al., 2013a). Das Aufzeigen von negativen Assoziationsbefunden ist dennoch erforderlich, um einen Publikationsbias entgegenzuwirken und den tatsächlichen Kenntnisstand über die Rolle der *SODs* beim Phänotyp Langlebigkeit vollständig abzubilden (Dirnagl and Lauritzen, 2010; Ioannidis, 2006).

5.4.2 Die Rolle von CETP im Lipoproteinstoffwechsel

In der deutschen Population wurden drei SNVs in der *CETP*-Genregion detektiert, die eine nominell signifikante Assoziation mit Langlebigkeit zeigten (rs1864163, rs11076175, rs7205804) – sowohl in der gesamten Studienpopulation (1.612 LLI \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) als auch in der untersuchten Subpopulation (748 LLI \geq 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen) ($p \leq 0,05$). Es gilt jedoch zu berücksichtigen, dass durch die Vielzahl durchgeführter Analysen die zuvor beobachteten Assoziationssignale für rs1864163, rs11076175, rs7205804 im Rahmen der Korrektur für multiples Testen nicht mehr statistisch signifikant sind. Daher sollte eine Replikation der Befunde in unabhängigen Stichproben durchgeführt werden. In der französischen Replikationsstichprobe konnten die Assoziationsbefunde für den am stärksten assoziierten SNV (rs1864163) nicht bestätigt werden ($p > 0,05$). Eine Meta-GWAS mit 5.406 LLI \geq 90 Jahren und 15.112 jüngeren Kontrollen \leq 65 Jahren hat jedoch für zwei der drei signifikanten *CETP*-SNVs (rs1864163, rs7205804) ebenfalls einen signifikanten p-Wert von je $< 0,05$ gezeigt (Deelen et al., 2014). Da diese Meta-GWAS jedoch verschiedene europäische Populationen umfasst, ist nicht klar, in welcher Kohorte ein starkes (oder schwaches) Assoziationssignal zu sehen ist.

Mit Ausnahme der Meta-GWAS von Deelen et al. (2014) zeigte bisher noch kein genetischer Marker im *CETP*-Gen eine signifikante Assoziation in einer weiteren Population (Atzmon et al., 2005; Koropatnick et al., 2008; Soerensen et al., 2013) (Abbildung 5-1). Es ist vorstellbar, dass aufgrund von populationspezifischen Effekten jeweils eine andere Variante in den verschiedenen Populationen von funktioneller Relevanz ist. Damit wäre es schwierig den Assoziationsbefund für rs1864163, der in der deutschen Studienpopulation detektiert wurde, auch in der französischen Studienpopulation zu beobachten. Die Effekte einzelner *CETP*-SNVs auf die Lipoproteinprofile können zudem aufgrund von Umweltfaktoren in der deutschen und französischen Population unterschiedlich sein. So können z.B. Unterschiede bezüglich der Fettaufnahme, Alkoholkonsum und physische Aktivität zu einem modifizierten Lipoprotein-Metabolismus in Deutschen und Franzosen führen (Ferrieres, 2004; Rudkowska et al., 2013; Schierer et al., 2012; Slimani et al., 2002).

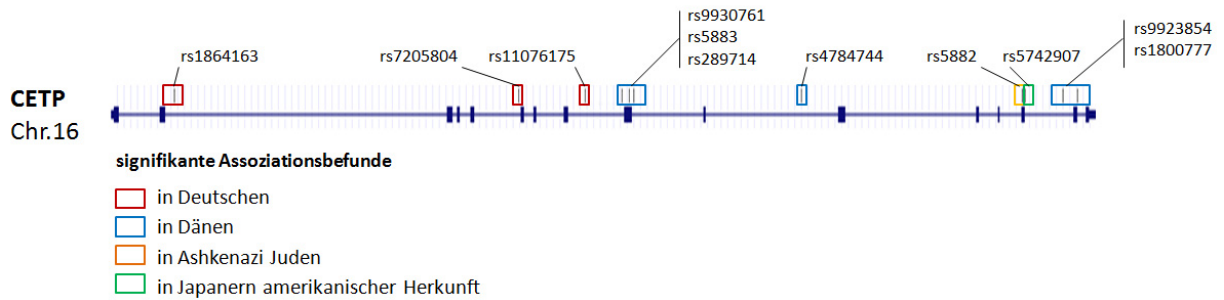


Abbildung 5-1: Bisherige Assoziationsbefunde für SNVs in der *CETP*-Genregion (1.612 \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Bisher konnte keine signifikante genetische Variante identifiziert werden, die auch in anderen Populationen eine signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit zeigt.

Die bisherigen Befunde für SNVs in der *CETP*-Genregion könnten auf genotypabhängige Effekte im Lipoprotein-Metabolismus hindeuten. In einer vorherigen Meta-GWAS wurde z.B. für rs1864163 eine genomweite Assoziation mit HDL-Cholesterin beobachtet ($p < 10^{-20}$) (Willer et al., 2008). Dabei war das G-Allel mit erhöhten HDL-Cholesterinwerten assoziiert. Dieses Allel zeigte in der deutschen Studienpopulation im Vergleich zu den jüngeren Kontrollen ($n=1.104$) eine höhere Allelfrequenz in den LLI ($n=1.612$) ($MAF_{LLI}=0,77$ vs. $MAF_{Kontrollen}=0,73$). Ähnliche Assoziationsbefunde für rs1864163 und HDL-Konzentrationen wurden auch in anderen Studien gezeigt (Dumitrescu et al., 2011; Ridker et al., 2009). Demzufolge könnte das G-Allel, welches häufiger in LLI vorkommt, möglicherweise durch die Erhöhung des HDL-Cholesterins zu protektiven Lipidprofilen beitragen, das mit einem vermindertem Risiko für altersbedingte Entzündungserkrankungen wie z.B. Atherosklerose einhergeht (Kontush and Chapman, 2006; Vergeer et al., 2010).

Mögliche funktionelle Effekte von *CETP*-SNVs könnten dabei auch geschlechtsspezifisch sein. So zeigte sich in der deutschen Studienpopulation für sechs SNVs (rs9929488, rs12597002, rs11076175, rs289714, rs5882, rs289742) trotz der geringen Stichprobengröße eine signifikante Assoziation ($p \leq 0,05$) in der Subgruppe der Männer (436 LLI \geq 95 Jahre und 283 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahre) – bei gleichzeitig stärkeren Odds Ratios im Vergleich zur Subgruppe der Frauen (Tabelle 4-6). Ein SNV (rs5882) ist dabei von potentieller funktioneller Relevanz, da diese Variante zu einem Aminosäureaustausch führt und in Ashkenazi-Juden bereits eine signifikante Assoziation mit Langlebigkeit gezeigt hat (Barzilai et al., 2003). In Ashkenazi-Juden wurde dabei bei LLI und deren Nachkommen im Vergleich zu jüngeren Kontrollen eine höhere Frequenz des G-Allels von rs5882 v.a. bei den Männern beobachtet (Barzilai et al., 2003). Das G-Allel war zudem mit einer höheren

Lipoprotein-Partikelgröße und geringeren CETP-Serumkonzentrationen assoziiert. Im Gegensatz zur jüdischen Studienpopulation kommt das G-Allel in der deutschen Studienpopulation jedoch bei den Männern häufiger in den jüngeren Kontrollen vor ($MAF_{LLI}=0,288$ vs. $MAF_{Kontrollen}=0,345$). Aufgrund der diskrepanten Befunde ist nicht klar, inwiefern das seltene Allel von rs5882 eine Rolle für Langlebigkeit, insbesondere bei Männern, spielt. Zudem könnte es sich bei den signifikanten SNVs in der Subgruppe der Männer um falsch-positive Befunde handeln, da diese Subgruppe zu klein ist, um eine statistische Power von 80% für häufige Varianten ($MAF>0,05$) mit moderaten Effekten (Odds Ratio=1,4) zu erreichen (Barzilai et al., 2003).

Geschlechtsspezifische Unterschiede für *CETP*-SNVs wurden auch in weiteren Studien beobachtet. Dabei zeigte sich in verschiedenen Populationen, dass das G-Allel von rs5882 und das T-Allel von rs708272 v.a. bei Männern mit Hypertriglyzeridämie mit erhöhten HDL-Konzentrationen assoziiert sind (Agerholm-Larsen et al., 2000; Anagnostopoulou et al., 2009; Bruce et al., 1998; Kark et al., 2000; Kuivenhoven et al., 1997; Sandhofer et al., 2008). Möglicherweise zeigen Genvarianten im *CETP*-Gen bei Männern mit Hypertriglyzeridämie einen stärkeren protektiven Effekt (Jonkers et al., 2002; Liu et al., 2008). Obwohl der Einfluss des Geschlechts auf Effekte von SNVs in der *CETP*-Genregion noch nicht eindeutig ist, erweist es sich dennoch als notwendig, diesen Parameter bei genetischen Untersuchungen von *CETP* zu berücksichtigen. Grund hierfür ist, dass Unterschiede im Lipoproteinprofil und -Metabolismus ebenfalls geschlechtsspezifisch sein können und somit auch veränderte Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen bei Männern und Frauen zum Tragen kommen können (Goh et al., 2007; Johnson et al., 2004; Kark et al., 2000; Knopp et al., 2005; Legato, 2000).

Die genetischen Befunde für *CETP* lassen sich wie folgt zusammenfassen: In der hier untersuchten deutschen Studienpopulation waren drei *CETP*-SNVs nominell signifikant assoziiert. Bisher konnten die Befunde für assoziierte SNVs in der *CETP*-Genregion jedoch noch nicht mehrfach in einer anderen unabhängigen Population bestätigt werden. Da *CETP* neben *APOE* eine zentrale Rolle im Lipoprotein-Metabolismus spielt und *CETP*-SNVs Einfluss auf die Lipidprofile von LLI nehmen (Barzilai et al., 2003), könnte *CETP* dennoch ein potentielles Kandidatengen für Langlebigkeit darstellen. Weitere Replikationsstudien sind jedoch notwendig, um die Assoziationsbefunde von genetischen Varianten in *CETP* validieren zu können.

5.4.3 Charakterisierung von SNVs in der *FOXO3A*-Genregion

FOXO3A ist neben *APOE* das einzige Gen, für das im Rahmen von Kandidatengenstudien eine Assoziation genetischer Varianten mit dem Phänotyp Langlebigkeit in mehreren unabhängigen Populationen validiert werden konnte (Anselmi et al., 2009; Flachsbart et al., 2009; Li et al., 2009c; Pawlikowska et al., 2009; Willcox et al., 2008a). Die zuvor beschriebenen assoziierten SNVs in *FOXO3A* waren dabei entweder in intronischen Bereichen oder außerhalb der Genregion lokalisiert.

Im Rahmen dieser Fall-Kontroll-Studie wurden sowohl häufige als auch seltene Varianten in der *FOXO3A*-Genregion untersucht und zusätzlich neue und funktionell relevante SNVs identifiziert, die auch in kodierenden Regionen lokalisiert sind. Für die Detektion von häufigen und seltenen Varianten wurden dazu drei verschiedene Sequenzierungstechnologien (SOLiD, Illumina, Sanger) genutzt. Von insgesamt 205 ausgewählten typisierten SNVs wurden 54 *FOXO3A*-SNVs identifiziert, die sowohl in der Gesamtpopulation als auch in der Subgruppe von LLI ≥ 100 Jahren eine statistisch signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit gezeigt haben ($p < 0,05$). Die stärksten Assoziationssignale wurden in der Subgruppe von LLI ≥ 100 Jahren beobachtet. Die assoziierten SNVs waren vorwiegend in intronischen Bereichen lokalisiert. Nach Korrektur für multiples Testen sind die assoziierten 54 SNVs zwar nicht mehr statistisch signifikant, jedoch ist dies für die hier durchgeführten genetischen Untersuchungen von *FOXO3A*-SNVs nicht relevant, da (1) die Assoziationsbefunde von *FOXO3A*-SNVs bereits in verschiedenen Populationen validiert sind (Anselmi et al., 2009; Flachsbart et al., 2009; Li et al., 2009c; Pawlikowska et al., 2009; Willcox et al., 2008a) und es (2) das Ziel war, in einem explorativen Ansatz SNVs mit den stärksten Assoziationssignalen zu lokalisieren und diese in funktionellen Studien zu untersuchen.

In den funktionell interessanten kodierenden Regionen von *FOXO3A* (Exon 2 und 3) wurden keine statistisch signifikanten SNVs identifiziert ($p > 0,05$). Die Sequenzierung der kodierenden *FOXO3A*-Region von langlebigen Amerikanern japanischer Herkunft hat ebenfalls gezeigt, dass dort kodierende *FOXO3A*-SNVs nicht mit Langlebigkeit assoziiert waren (Donlon et al., 2012). Der Einfluss von kodierenden SNVs auf die *FOXO3A*-Regulation scheint im Vergleich zu nicht-kodierenden SNVs geringer zu sein, da es sich bei den Exonen um evolutionär hoch konservierte Regionen handelt (Khan et al., 2012; Obsil and Obsilova, 2008). Die funktionelle Relevanz von nicht-kodierenden und intronischen *FOXO3A*-SNVs (z.B. für rs2802292 und 12212067) wurde hingegen vielfach beschrieben

(Banasik et al., 2011; Forte et al., 2014; Kaplan et al., 2011; Lee et al., 2013). In der Promotorregion von *FOXO3A* wurden nur wenige SNVs mit schwächeren Assoziationssignalen detektiert (Abbildung 4-7 und 4-8). Somit scheint auch die Promotorregion im Vergleich zu den intronischen Bereichen von geringer Bedeutung zu sein bezüglich funktioneller Effekte auf die Genexpression (Hoogendoorn et al., 2003; Maurano et al., 2012).

Die stärksten Assoziationssignale wurden in der deutschen Studienpopulation für einen SNV (rs4946935) in der Nähe der 3'UTR beobachtet. Dieser SNV ist in starkem LD mit mehreren SNVs, die in unmittelbarer Nähe lokalisiert sind. Im Rahmen einer Meta-GWAS mit 6.036 LLI ≥ 90 Jahren und 3.757 jüngeren Kontrollen zwischen 55-80 Jahren wurde für rs10457180, ein LD-SNV von rs4946935, ebenfalls die stärkste Assoziation mit Langlebigkeit beobachtet (Broer et al., 2014).

SNVs im letzten nicht-kodierenden Exon 4, die in starkem LD mit rs4946935 sind, zeigten in der deutschen Studienpopulation weitere starke Assoziationssignale (Flachsbart et al., 2013). Diese SNVs in der 3'UTR könnten Einfluss auf die Stabilität der mRNA nehmen oder zusätzlich Bindestellen für regulierende mikroRNAs modifizieren und somit zu einer Erhöhung oder Verringerung der *FOXO3A*-Expression führen. Dadurch könnten sich mögliche therapeutische Wege zur Beeinflussung der *FOXO3A*-Regulation ableiten.

Bioinformatische Tools haben für den SNV mit der stärksten Assoziation (rs4946935) die besten Hinweise für mögliche Transkriptionsfaktor-Bindestellen aufgezeigt. Für rs4946935 wurde sowohl für das häufige G-Allel als auch das seltene A-Allel über drei verschiedene bioinformatische Tools (sTRAP, HaploReg v2 und RegulomeDB) eine Transkriptionsfaktor-Bindestelle für SRF (A-Allel) und PDX1 (G-Allel) vorhergesagt. Diese zwei Transkriptionsfaktoren sind neben *FOXO3A* im Insulin-IGF1-Signalweg involviert (Carter and Brunet, 2007; Iype et al., 2005; Miano, 2003; Ni et al., 2007; Sarkar et al., 2011; Schrott et al., 2004). Dieser Zusammenhang wird dadurch untermauert, dass *FOXO3A*, *SRF* und *PDX1* im Pankreasgewebe und panc1-Zellen exprimiert werden (Abbildung 4-10). Für *SRF* und *PDX1* wurde zudem gezeigt, dass diese die Insulin-Genexpression im Pankreas regulieren (Sarkar et al., 2011). Da Insulin zur einer Herabregulation von *FOXO3A* führt (Paula-Gomes et al., 2013), könnten *SRF* und *PDX1* über die Insulin-Genregulation oder direkt über die Bindung an *FOXO3A*-spezifische Sequenzen einen Effekt auf die *FOXO3A*-Expression haben.

In funktionellen Studien konnte mittels Supershift-Assay bestätigt werden, dass PDX1 tatsächlich verstärkt am G-Allel von rs4946935 in panc1-Zellen bindet, während für das A-Allel keine Bindeaffinität für PDX1 aufgezeigt werden konnte (Abbildung 4-11). Dieser Befund verweist auf eine direkte Regulation von *FOXO3A* durch die Bindung von Transkriptionsfaktoren wie PDX1 an eine *FOXO3A*-spezifische Sequenz am rs4946935. Inwiefern diese Bindung von PDX1 an *FOXO3A*-spezifische Sequenzen zu einer Erhöhung oder Verringerung der *FOXO3A*-Genexpression führt, ist bisher jedoch noch nicht geklärt, obwohl in Modellorganismen vielfach gezeigt wurde, dass eine erhöhte *FOXO3A*-Expression mit einer Erhöhung der Lebensspanne einhergeht (Bansal et al., 2014; Giannakou et al., 2004; Hwangbo et al., 2004). Möglicherweise bedingt die verstärkte Bindung von PDX1 am G-Allel, welches häufiger in jüngeren Kontrollen zu finden ist, eine verringerte *FOXO3A*-Expression. Allerdings könnten die Effekte auf die *FOXO3A*-Genregulation unter PDX1 in Abhängigkeit von externen Stressoren wie z.B. verschiedenen Nahrungsmittelinhaltsstoffen (z.B. Glukose) und kalorischer Restriktion oder oxidativem Stress zusätzlichen Änderungen unterworfen sein (Andrali et al., 2008). Für *SRF* konnten mittels Supershift-Assay keine Bindestellen für rs4946935 identifiziert werden. Dies schließt jedoch nicht aus, dass in anderen und hier nicht untersuchten Zelllinien synergistische Effekte hinsichtlich der *FOXO3A*-Regulation dieser zwei Transkriptionsfaktoren vorliegen (Cheng et al., 2012; Posern and Treisman, 2006; Sarkar et al., 2011).

Im Rahmen dieser Studie wurde kein signifikanter Unterschied bezüglich der *FOXO3A* mRNA-Level in lymphoblastoiden Zelllinien für die beiden SNV-Allele von rs4946935 gefunden. Dies hängt möglicherweise damit zusammen, dass eine zell- und gewebespezifische *FOXO3A*-Regulation vorliegt (Webb and Brunet, 2014). Aufgrund der zentralen Rolle von *FOXO3A* im Insulin-IGF-Signalweg und der detektierten Bindestelle für PDX1 in panc1-Zellen eignen sich daher vermutlich Pankreaszelllinien zur Untersuchung genotypabhängiger Korrelation mit *FOXO3A* mRNA-Level (Hoffman et al., 2010; Kitamura and Ido Kitamura, 2007).

Auf der Grundlage von den beobachteten p-Werten in der deutschen Studienpopulation, bioinformatischen Vorhersagetools für Transkriptionsfaktor-Bindestellen und der bisher beschriebenen funktionellen Relevanz für den Insulin-IGF1-Signalweg für die jeweiligen *FOXO3A*-SNVs wurden drei der 54 identifizierten SNVs (rs4946935, rs12206094, rs2802288) in einer unabhängigen Replikationsstichprobe getestet. Zwei der drei SNVs (rs4946935, rs12206094) wurden ausgewählt, da diese die stärkste Assoziation mit dem

Phänotyp Langlebigkeit in der deutschen Population gezeigt haben. Zudem wurden für rs4946935 mittels verschiedener bioinformatischer Tools mit hoher Wahrscheinlichkeit verschiedene Transkriptionsfaktor-Bindestellenaffinitäten vorhergesagt. Ein weiterer SNV (rs2802288) wurde ausgewählt, da dieser in anderen Studien auf eine Assoziation mit Insulin- und IGF-1-Konzentrationen verweist und somit von funktioneller Relevanz sein könnte (Banasik et al., 2011; Forte et al., 2014). Die Assoziationsbefunde wurden für alle drei SNVs (rs4946935, rs12206094, rs2802288) in der französischen Population bestätigt.

Die drei SNVs haben ebenfalls in weiteren unabhängigen Studien eine signifikante Assoziation mit dem Phänotyp Langlebigkeit gezeigt. So waren rs4946935 in Aschkenazi-Juden (Pawlikowska et al., 2009) und der zuvor untersuchten deutschen Population (Flachsbart et al., 2009), rs12206094 in den Dänen (Soerensen et al., 2010) und rs2802288 in Südtalienern mit Langlebigkeit assoziiert (Anselmi et al., 2009). Signifikante Assoziationssignale wurden dabei auch für SNVs beobachtet, die in starkem LD mit diesen SNVs sind ($r^2 > 0,8$) (Tabelle 5-1). Auffällig ist dabei, dass für rs2802292 sowie für LD-SNVs von rs4946935 in verschiedenen Populationen sowie im Rahmen von Meta-Analysen signifikante Assoziationsbefunde beobachtet wurden. Für rs2802292 und einem LD-SNV von rs4946935 wurde zudem gezeigt, dass diese Varianten möglicherweise mit IGF1-Konzentrationen und Plasmainsulinwerten assoziiert sind (Banasik et al., 2011; Kaplan et al., 2011). Dies verdeutlicht die funktionelle Relevanz von *FOXO3A*-SNVs im Insulin-IGF1-Signalweg.

Tabelle 5-1: Bisherige signifikante Assoziationsbefunde für LD-SNVs von rs4946935 und rs2802288. Gelistet sind Angaben zu LD-SNVs mit $r^2 > 0,8$ und signifikante Assoziationen in der jeweiligen Population. Für rs12206094 wurden bisher keine signifikanten LD-SNVs in einer Population detektiert.

SNV	LD-SNVs ($r^2 > 0,8$)	Signifikante Assoziationsbefunde in...	Referenz
rs4946935	rs3800231	Dänen	Soerensen et al., 2010
	rs13217795	Amerikanern japanischer Herkunft	Willcox et al., 2008a
	rs13217795	Südtalienern	Anselmi et al., 2009
	rs4946936	Han-Chinesen	Li et al., 2009c
	rs1935949	Aschkenazi-Juden	Pawlikowska et al., 2009
	rs3800231, rs9400239	Deutschen	Flachsbart et al. 2009
	rs10457180	Meta-GWAS	Broer et al., 2014
	rs13217795, rs1935949, rs9400239	Meta-Analyse	Bao et al., 2014
rs2802288	rs2802292	Dänen	Soerensen et al., 2010
	rs2802292	Amerikanern japanischer Herkunft	Willcox et al., 2008a
	rs2802292	Südtaliener	Anselmi et al., 2009
	rs2802292, rs2253310	Han-Chinesen	Li et al., 2009c
	rs6911407	Deutschen	Flachsbart et al. 2009
	rs2802292	Meta-Analyse	Bao et al., 2014
	rs2802292	Meta-GWAS	Broer et al., 2014

5.4.3.1 Genetische Regulation des Insulin-IGF1-Signalwegs bei langlebigen Individuen

Alle drei SNVs (rs4946935, rs12206094, rs2802288) sind in unterschiedlichen Regionen von *FOXO3A* lokalisiert und stehen nicht in LD zueinander ($r^2 < 0,8$) (Abbildung 8-3, Anhang). Es gibt Hinweise, dass das G-Allel von einem LD-SNV von rs4946935 (rs2153960) mit geringeren IGF-1-Konzentrationen assoziiert ist (Kaplan et al., 2011). Das G-Allel von rs2153960 kam in der untersuchten deutschen Studienpopulation (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen) häufiger in den LLI vor (Tabelle 4-13). Eine genotypabhängige Regulation von Insulin wurde ebenfalls für rs2802292 gezeigt, der in starkem LD mit rs2802288 ist. Dabei war das G-Allel mit geringeren Plasmainsulinwerten und einer erhöhten Insulinsensitivität assoziiert (Banasik et al., 2011). Weitere Befunde deuten darauf, dass das G-Allel von rs2802292 mit einem verringerten Krebsrisiko (v.a. bei Männern) assoziiert ist und vermutlich zu einer gesteigerten *FOXO3A*-Expression führt (Forte et al., 2014). In der deutschen Studienpopulation kam das G-Allel von rs2802292 im Vergleich zu den jüngeren Kontrollen häufiger in den LLI ≥ 100 vor (Tabelle 4-13). Die Befunde für rs2153960 und rs2802292 deuten darauf hin, dass LLI, die jeweils das seltene Allel der zwei SNVs tragen, möglicherweise geringere IGF-1 Konzentrationen aufweisen.

In Modellorganismen wurde vielfach gezeigt, dass die Herabregulation des Insulin-IGF1-Signalwegs zu einer Erhöhung der Lebensspanne führt (Longo and Finch, 2003; van Heemst, 2010; Zarse et al., 2012). Beim Menschen sind diese Befunde noch nicht eindeutig bestätigt worden. IGF-1 Konzentrationen nehmen beim Menschen im hohen Alter kontinuierlich ab (Arai et al., 2001; Laron, 2008). Auch bei LLI und deren Nachkommen wurden geringe Konzentration an IGF-1 gemessen (Paolisso et al., 1997; Paolisso et al., 2001; Salvioli et al., 2009; van Heemst et al., 2005; Vitale et al., 2012). Zudem sind genetische Varianten, die mit verringerten IGF-1 Konzentrationen assoziiert sind, verstärkt bei LLI zu finden (Bonafé et al., 2003). In einer anderen Studie wurde hingegen gezeigt, dass LLI erhöhte IGF-1 Konzentrationen aufweisen (Suh et al., 2008). Dabei wiesen LLI allerdings auch eine höhere Frequenz von Genvarianten des IGF-1-Rezeptors auf, die mit einer verminderten Aktivität des IGF1-Rezeptors assoziiert sind. Dadurch lässt sich möglicherweise eine IGF-1-Insensitivität ableiten, so dass trotz hoher IGF-1-Konzentrationen der Insulin-IGF1-Signalweg nicht heraufreguliert wird (Suh et al., 2008).

Aufgrund von widersprüchlichen Befunden, ist noch nicht klar, ob hohe oder geringe IGF1-Konzentrationen von Vorteil sind für das Überleben (Roizing et al., 2009). Beim Menschen wurde z.B. gezeigt, dass geringe IGF-1 Konzentrationen mit einer erhöhten Mortalitätsrate sowie einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und Typ-2-Diabetes einhergehen (Cappola et al., 2003; Juul, 2003), während hohe IGF-1 Konzentrationen hingegen möglicherweise das Entstehen von malignen Tumoren bedingen (Samani et al., 2007). Sollte sich bestätigen, dass geringe IGF-1-Konzentrationen von Nachteil für das Erreichen eines hohen und gesunden Lebensalters sind, so spielen bei LLI vermutlich kompensatorische Mechanismen eine Rolle, die den nachteiligen Effekten von geringen IGF-1-Konzentrationen entgegenwirken.

Der Insulin-IGF-1-Signalweg spielt möglicherweise auch eine Rolle bei inflammatorischen Entzündungsreaktionen. So wurde gezeigt, dass hohe IGF-1-Konzentrationen mit geringen Konzentrationen an IL-6 und TNF- α einhergehen (Cappola et al., 2003; Maggio et al., 2013). Geringe IGF-1-Konzentrationen bei gleichzeitig hohen IL-6-Level erhöhen vermutlich auch die Morbiditäts- und Mortalitätsrate im Vergleich zu Individuen mit hohen IGF-1 Konzentrationen und geringen IL-6 Level (Cappola et al., 2003). Die Befunde bezüglich einer Interaktion zwischen IGF-1 und pro-inflammatorischen Zytokinen werden dadurch untermauert, dass bei LLI erhöhte Plasmawerte an IL-6 gemessen wurden im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung (Baggio et al., 1998; Franceschi et al., 2007). LLI sind möglicherweise dennoch vor altersbedingten Entzündungserkrankungen geschützt, da geringe IGF-1-Konzentrationen und die dadurch induzierte Herabregulation des Insulin-IGF-1-Signalwegs und Erhöhung der *FOXO3A*-Expression mit zellprotektiven Mechanismen und erhöhter Stressresistenz einhergehen könnte (Kenyon, 2011; van Heemst, 2010; Zarse et al., 2012). Neben geringen IGF-1-Konzentrationen und einer möglichen Insensitivität gegenüber IGF-1, weisen LLI auch hohe Konzentrationen an anti-inflammatorischen Zytokinen wie IL-10 und TGF- β auf (Salvioli et al., 2009), die vermutlich zusätzlich dazu beitragen, der Entstehung altersbedingten Entzündungserkrankungen entgegenzuwirken (Franceschi et al., 2007).

5.4.3.2 Die Rolle von *FOXO3A* bei Entzündungsprozessen

In dendritischen Zellen inhibiert *FOXO3A* möglicherweise die Aktivierung von NF-kappaB und die Produktion pro-inflammatorischer Zytokine wie von IL-6 und TNF- α , wodurch im Folgenden das T-Zellwachstum reguliert wird (Dejean et al., 2009; Hedrick et al., 2012; Kerdiles et al., 2010; Sela et al., 2006). *FOXO3A* fungiert dabei als immunsuppressiver

Mediator, wodurch vermutlich der Entstehung chronischer Entzündungsreaktionen entgegengewirkt wird (Lee et al., 2013; Watkins et al., 2011). Für einen intronischen *FOXO3A*-SNV (rs12212067) wurde gezeigt, dass das G-Allel bei Patienten mit Morbus Crohn und rheumatoider Arthritis mit einem milden Krankheitsverlauf korreliert (Lee et al., 2013). Das G-Allel war dabei ebenfalls mit einer Erhöhung der *FOXO3A*-Genexpression in Monozyten assoziiert und führte im Folgenden zu einer verringerten Expression von TNF- α , IL-6, IL-1 β und IL-8 sowie einer erhöhten Expression von IL-10 (Lee et al., 2013). Der genetische Einfluss von rs12212067 wurde in einer weiteren Studie mit 550 Morbus Crohn Patienten untersucht (Schnitzler et al., 2014). Allerdings konnte dabei kein Effekt von rs12212067 auf den Krankheitsverlauf beobachtet werden. Dabei gilt jedoch zu berücksichtigen, dass in diesem Fall die Anzahl untersuchter Morbus Crohn Patienten relativ gering war (550 vs. 2.985) (Lee et al., 2013; Schnitzler et al., 2014). In der deutschen Studienpopulation kam das seltene G-Allel von rs12212067 häufiger in den LLI ≥ 100 Jahren vor, obwohl der Unterschied in der Allelfrequenz zu den Kontrollen nicht statistisch signifikant war ($MAF_{LLI}=0,122$; $MAF_{Kontrollen}=0,111$; $p=0,37$) (Tabelle 8-9 und 8-10, Anhang). Inwiefern die Kontrolle der Produktion pro-inflammatorischer Zytokine auch eine Rolle bei der Variabilität der Lebensspanne spielt, ist derzeit noch nicht eindeutig geklärt.

5.4.3.3 Geschlechtsspezifische Unterschiede von genetischen Varianten in *FOXO3A*

Trotz der deutlich geringeren Anzahl an LLI und jüngeren Kontrollen in der männlichen Subgruppe (119 LLI und 237 Kontrollen) im Vergleich zur weiblichen Subgruppe (475 LLI und 681 Kontrollen) waren insgesamt zwölf *FOXO3A*-SNVs nur bei Männern signifikant mit Langlebigkeit assoziiert und bei vielen SNVs zeigten sich bei den Männern stärkere Odds Ratios als bei den Frauen. Dies deutet darauf hin, dass einige genetische Varianten im *FOXO3A*-Gen möglicherweise bei Männern von besonderer Bedeutung sind. Eine Meta-Analyse mit insgesamt 11 unabhängigen Studien und unterschiedlichen ethnischen Gruppierungen hat gezeigt, dass fünf *FOXO3A*-SNVs (rs2802292, rs2764264, rs13217795, rs1935949 und rs2802288) signifikant mit Langlebigkeit assoziiert sind, wobei die Assoziationsbefunde von zwei dieser SNVs lediglich bei Männern (rs2802292 und rs2764264) zu finden waren (Bao et al., 2014). Eine weitere Meta-Analyse konnte ebenfalls eine Assoziation von *FOXO3A*-SNVs (rs2764264 und rs9400239) mit Langlebigkeit in der Subgruppe der Männer aufzeigen (Di Bona et al., 2014). Diese stärkeren Unterschiede in der Allelfrequenz von *FOXO3A*-SNVs zwischen hochbejahrten jüngeren Männern wurden auch in der dänischen (rs12206094, rs13220810, rs2802292, rs3800231, rs9486902) (Soerensen et

al., 2010) und der italienischen Population (rs2802288, rs10499051 rs2802292, rs2764264, rs13217795) beschrieben (Anselmi et al., 2009; Soerensen et al., 2010). Allerdings umfasste die männliche Stichprobe bei den Dänen nur 313 LLI und 371 Kontrollen und bei den Südtalienern lediglich 281 LLI und 195 Kontrollen (Anselmi et al., 2009; Soerensen et al., 2010). Auch in der französischen Replikationsstudie wurde in einer geschlechtsspezifischen Analyse für alle drei getesteten *FOXO3A*-SNVs (rs12206094, rs4946935, rs2802288) gezeigt, dass die Odds Ratios in der männlichen Subgruppe am stärksten waren. In der französischen Stichprobe war die Anzahl der Männer jedoch ebenfalls gering (232 LLI und 725 jüngere Kontrollen).

Die oben beschriebenen Assoziationsbefunde für SNVs in der männlichen Subgruppe konnten nur für rs12206094 in der deutschen Studienpopulation bestätigt werden. Für zwei SNVs (rs2802292 und rs2802288), die in starkem LD sind ($r^2 > 0,8$), wurde jedoch in mehreren Studien und ebenfalls in der französischen Population gezeigt, dass die Assoziationsbefunde verstärkt bei Männern zu finden waren (Anselmi et al., 2009; Bao et al., 2014; Soerensen et al., 2010). Die geschlechtsspezifischen Befunde für *FOXO3A*-SNVs könnten Hinweise darauf geben, dass sich bei Männern möglicherweise generell stärkere genetische Effekte zeigen als bei den Frauen. Aufgrund der geringen Stichprobengröße in der hier untersuchten männlichen Studienpopulation (119 LLI und 237 Kontrollen) könnte es sich hierbei aber auch um falsch-positive Ergebnisse handeln. Um eine statistisch signifikante Assoziation für häufige Varianten ($MAF > 0,05$) mit moderaten Effekten ($OR = 1,4$) zu detektieren, sollte die Fall- und Kontrollstichprobe jeweils mehr als 1000 Individuen umfassen, um eine Power von 80% zu erreichen.

Die genetischen Effekte von SNVs in der *FOXO3A*-Genregion könnten jedoch nicht nur vom Geschlecht sondern auch durch populationsspezifische Effekte beeinflusst werden. Dabei sind vermutlich mehrere *FOXO3A*-SNVs von Bedeutung, die möglicherweise additive oder synergistische Effekte induzieren. Das Zusammenwirken verschiedener genetischer Varianten (allelische Heterogenität) könnte bedeuten, dass neben dem funktionell relevanten SNV rs4946935, der in unserer Studie die stärksten Assoziationssignale gezeigt hat, auch weitere *FOXO3A*-SNVs den Insulin-IGF-1-Signalweg modulieren. So deuten Befunde für rs2802292 ebenfalls darauf hin, dass dieser SNV in mehreren Populationen mit Langlebigkeit assoziiert ist und dabei auch mit veränderten Plasmainsulinwerten und IGF-1-Konzentrationen einhergeht (Anselmi et al., 2009; Banasik et al., 2011; Bao et al., 2014; Broer et al., 2014; Soerensen et al., 2010; Willcox et al., 2008a).

5.4.4 Identifizierung von neuen Suszeptibilitätsfaktoren für Langlebigkeit beim Menschen mittels ImmunoChip-Typisierung

Drei von insgesamt 18 untersuchten SNVs (rs907875, rs77048564, rs2706372) zeigten sowohl in der deutschen als auch in der französischen Studienpopulation einen signifikanten Assoziationsbefund für Langlebigkeit ($p < 0,05$). Die Allelfrequenzen für das jeweilige seltene Allel zeigten einen ähnlichen Trend in den beiden untersuchten Populationen mit Ausnahme von rs77048564. Für diesen SNV wurde eine geringe Allelfrequenz des seltenen Allels in der deutschen Kontrollstichprobe beobachtet, während dieses Allel in der französischen Kontrollstichprobe häufiger vorkam. Der Assoziationsbefund für diesen SNV in der deutschen Studienpopulation konnte somit nicht in einer weiteren Population bestätigt werden. Die stärksten Assoziationsbefunde in der französischen Studienpopulation wurden für rs2706372 im *RAD50*-Gen identifiziert ($p = 0,002$; OR=1,215). Für diesen SNV wurden zudem weitere LD-SNVs mit signifikanten p -Werten in der deutschen Population gefunden (Abbildung 4-12). Eine Meta-GWAS mit 5.406 LLI ≥ 90 Jahren und 15.112 jüngeren Kontrollen ≤ 65 Jahren konnte den Assoziationsbefund für rs2040704 im *RAD50*-Gen jedoch nicht bestätigen ($p = 0,16$) (Deelen et al., 2014). Grund hierfür ist jedoch möglicherweise, dass die Fallstichprobe in dieser Studie lediglich LLI von ≥ 90 Jahren umfasst hat und sich statistisch signifikante Befunde erst in einer Subgruppe von LLI ≥ 95 Jahren gezeigt hätten. Daher sollten weitere Replikationsstudien für genetische Varianten in *RAD50* durchgeführt werden. Das *RAD50*-Gen könnte neben *FOXO3A* und *APOE* ein weiteres potentielles Kandidatengen für Langlebigkeit darstellen.

Sowohl rs2706372 als auch weitere SNVs in der *RAD50*-Genregion zeigten eine genomweite Signifikanz mit Asthma (Li et al., 2010b). Für rs2040704, ein LD-SNV von rs2706372, wurde eine signifikante Assoziation mit Immunglobulin E-Konzentrationen aufgezeigt, die mit einer verstärkten Aktivierung vom NF-kappaB Signalweg und ebenfalls einem erhöhten Risiko für Asthma einhergehen (Kraft and Kinet, 2007; Weidinger et al., 2008). *RAD50* ist auf Chromosom 5q31 lokalisiert und spielt eine zentrale Rolle bei der DNA-Reparatur (Hopfner et al., 2002; Kinoshita et al., 2009). Die 5q31-Region stellt ein Suszeptibilitätsfaktor für chronische Entzündungserkrankungen dar (Li et al., 2008; Rioux et al., 2000) und umfasst möglicherweise regulatorische Elemente, die für die Regulation der Expression von Zytokinen (z.B. IL-4 und IL-13) in TH2-Zellen verantwortlich sind (Lee et al., 2003; Marsh et al., 1994). Die Zytokincluster in dieser Region könnten vermutlich Hinweise auf die zugrundeliegenden protektiven Mechanismen bei LLI geben. Bisher ist nicht klar, ob die

entzündungsrelevanten Effekte durch genetische Varianten in den Zytokinclustern oder im *RAD50*-Gen hervorgerufen werden, da eine Vielzahl identifizierter SNVs im *RAD*-Gen in starkem LD sind mit Varianten in Suszeptibilitätsfaktoren wie z.B. IL-5, IL-4 und IL-13 (Li et al., 2010b). *RAD50* scheint im Rahmen der DNA-Reparatur womöglich auch in Wechselwirkung mit *Exonuklease 1* zu stehen (Nicolette et al., 2010; Tomita et al., 2003), das ebenfalls einen Suszeptibilitätsfaktor für Langlebigkeit beim Menschen darstellt (Nebel et al., 2009).

5.5 Übertragung genetischer Befunde in die klinische Medizin

Im Rahmen der personalisierten Medizin wurden bereits vielfach Möglichkeiten zur therapeutischen Umsetzung von generierten genetischen Befunden zur Langlebigkeit in die klinische Medizin diskutiert, um individuelle pharmakologische Strategien zu verfolgen (Chan and Ginsburg, 2011). Ziel ist es dabei u.a., Einfluss auf die zugrundeliegenden Mechanismen und Signalwege zu nehmen, die möglicherweise durch genetische Varianten modifiziert werden und somit vermutlich zu einem höheren Risiko für altersbedingte Entzündungserkrankungen führen (Mancinelli et al., 2000; Mi et al., 2010; Zhou et al., 2008).

Die bisherigen Assoziationsbefunde für genetische Varianten im *CETP*-Gen deuten darauf hin, dass diese eine verringerte CETP-Serumkonzentrationen verursachen und somit zu einer Erhöhung der HDL-Konzentration und Verringerung der LDL-Konzentrationen führen und zudem mit einer Erhöhung der HDL- und LDL-Partikelgröße einhergehen (Atzmon et al., 2005; Barzilai et al., 2003; Bruce et al., 1998; Chasman et al., 2008; Dumitrescu et al., 2011; Inazu et al., 1994; Kathiresan, 2012; Koropatnick et al., 2008; Saxena et al., 2007; Takeuchi et al., 2012; Willer et al., 2008). Diese Lipoproteinprofile (erhöhte HDL-Werte und eine Verringerung der LDL-Konzentrationen) senken vermutlich das Risiko für altersbedingte Entzündungserkrankungen (z.B. Atherosklerose, Typ-2-Diabetes und Alzheimer) (Di Angelantonio et al., 2009; Hajer et al., 2009; Lamarche et al., 1997; Mureddu et al., 2012; Verges, 2009; Warren et al., 2012). Daher wurden bereits verstärkt pharmakologische Therapieansätze zur CETP-Inhibition entwickelt (Davidson, 2012; Hunt and Lu, 2009; Mohammadpour and Akhlaghi, 2013). Bisher ist jedoch nicht vollständig geklärt, ob eine Hemmung der CETP-Aktivität tatsächlich zu einer Senkung des Risikos für altersbedingte Entzündungserkrankungen beiträgt (Bishop, 2013; Bochem et al., 2013; Keene et al., 2014). Zudem wurde gezeigt, dass CETP-Inhibitoren sogar zu einer erhöhten Mortalitätsrate geführt haben (Bochem et al., 2013; Ghosh and Ghosh, 2012). Aufgrund der fehlenden Evidenz sind

pharmakologische Therapien zur Senkung der CETP-Aktivität daher noch nicht zu empfehlen.

In Modellorganismen wurde gezeigt, dass eine Erhöhung der *FOXO3A*-Expression mit einer Erhöhung der Lebensspanne einhergeht (Bansal et al., 2014; Giannakou et al., 2004; Kenyon, 2011). Dieser Effekt wurde durch kalorische Restriktion zusätzlich verstärkt (Lee et al., 2009). Obwohl beim Menschen noch nicht klar ist, ob eine Erhöhung der *FOXO3A*-Expression zu einer erhöhten Lebensspanne beiträgt, werden therapeutische Ansätze zur Beeinflussung von Sirtuin-1 diskutiert, das als zentraler Regulator von *FOXO3A* fungiert (Brunet et al., 2004; Giannakou and Partridge, 2004; Xia et al., 2013). Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass *FOXO3A* zell- und gewebespezifisch agiert und die durch *FOXO3A* hervorgerufenen (antagonistischen) Effekte in verschiedenen Zell- und Gewebetypen (z.B. Apoptose vs. Zelldifferenzierung und -proliferation) je nach externen Stimuli verändert zum Tragen kommen (Burgering and Medema, 2003; Nakae et al., 2008; Peng, 2008).

Auf molekularer Ebene können genetische Varianten in *FOXO3A* z.B. zu zell- und gewebespezifischen veränderten Bindeaffinitäten von regulatorischen Elementen (z.B. Transkriptionsfaktoren, mikroRNA) und im Folgenden zu Änderungen in der Chromatinstruktur oder zur Modifikation von Histonen führen (Maston et al., 2006; McVicker et al., 2013; Neph et al., 2012). Dadurch könnten verschiedene *cis*- und *trans*-regulatorische Effekte ausgelöst werden (Bryois et al., 2014; Francesconi and Lehner, 2014). Die *FOXO3A*-Regulation unterliegt zudem verschiedenen posttranslationalen Modifikationen wie z.B. Phosphorylierung, Acetylierung und Ubiquitinierung, die ebenfalls je nach Zell- und Gewebetyp in Abhängigkeit vom Genotyp Änderungen unterworfen sind (Calnan and Brunet, 2008). Darüber hinaus können Umweltfaktoren (z.B. kalorische Restriktion, Lebensmittelinhaltsstoffe und physische Aktivität) die *FOXO3A*-Expression beeinflussen (Belguise et al., 2007; Chen et al., 2010). Aufgrund der komplexen regulatorischen Effekte auf Transkriptions- und Translationsebene bei gleichzeitigem Einfluss von epigenetischen Modifikationen sowie von Metabolom und Mikrobiota erweist es sich daher als notwendig, diese zukünftig in unterschiedlichen Zell- und Gewebetypen zu analysieren, um die Mechanismen der *FOXO3A*-Regulation zu verstehen und therapeutische Maßnahmen abzuleiten (Monsalve and Olmos, 2011; Rix and Superti-Furga, 2009; Schneider, 2013; Topol, 2014).

5.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Obwohl Langlebigkeit beim Menschen einen komplexen Phänotyp repräsentiert, konnten mittels Kandidatengenstudien zentrale Signalwege identifiziert werden, die bei der Regulation der Lebensspanne von Bedeutung sind (Fontana et al., 2010; Pawlikowska et al., 2009; van Heemst, 2010). Darüber hinaus stützen Kandidatengenstudien und GWAS zusätzlich die Rolle von *APOE* und dem Lipoproteinstoffwechsel beim Phänotyp Langlebigkeit (Blanchè et al., 2001; Deelen et al., 2011; Nebel et al., 2011; Schachter et al., 1994). Die zentrale Rolle vom Glukose- und Lipoproteinstoffwechsel bei der Variabilität der Lebensspanne wird dadurch bestärkt, dass kalorische Restriktion – und somit eine verringerte Aufnahme von Kohlenhydraten und Fetten – in Modellorganismen zu einer Erhöhung der Lebensspanne und einem verringerten Risiko für altersbedingte Erkrankungen führen (Bales and Kraus, 2013; Redman and Ravussin, 2011; Roth and Polotsky, 2012). Dies liegt möglicherweise an einer damit einhergehenden verringerten metabolischen Rate, geringerem oxidativen Stress und einer verbesserten Insulinsensitivität (Heilbronn and Ravussin, 2003; Merry, 2000; Redman and Ravussin, 2011; Roth and Polotsky, 2012). Ob und in welchem Maße kalorische Restriktion auch beim Menschen mit einer erhöhten Lebensspanne einhergeht, kann aufgrund fehlender Langzeitstudien zu Ernährungsgewohnheiten und Energieaufnahme noch nicht eindeutig geklärt werden (Cava and Fontana, 2013). Es wird jedoch vermutet, dass eine langfristige kalorische Restriktion eine im Vergleich zu anderen Ländern übermäßige Anzahl an LLI über hundert Jahren auf der Insel Okinawa bedingt (Willcox et al., 2007).

Die zentrale Bedeutung des Insulin-IGF1-Signalwegs und des Lipoprotein-Metabolismus konnte in dieser Studie nochmals untermauert werden. So wurden neue genetische Varianten im *CETP*- und *FOXO3A*-Gen detektiert, die signifikant mit Langlebigkeit in der deutschen Studienpopulation assoziiert sind. Dabei gilt zu berücksichtigen, dass die Befunde für genetische Varianten in *FOXO3A* bereits in verschiedenen Populationen validiert wurden. In der vorliegenden Studie wurde über einen explorativen Ansatz auch eine funktionell relevante Variante in *FOXO3A* detektiert. So konnten mögliche Regulationsmechanismen für *FOXO3A* über die direkte Bindung des Transkriptionsfaktors PDX1 an eine *FOXO3A*-spezifische Sequenz aufgezeigt werden, die speziell in Pankreaszelllinien zum Tragen kommen. Dieser Befund ist besonders interessant, da die Bauchspeicheldrüse durch die Regulation des Blutzuckerspiegels über Insulin und Glukagon eine wichtige Modulator-Funktion im Insulin-IGF-1-Signalweg einnimmt (Woods et al., 2006). Außerdem verdeutlicht dieser Befund, dass zell- und gewebespezifische Regulationsmechanismen für *FOXO3A* vorliegen.

Bisherige Assoziationsstudien für die hier untersuchten SNVs in *FOXO3A* und *CETP* verweisen auch auf mögliche geschlechtsspezifische Effekte, die v.a. in der Subgruppe der Männer von Bedeutung sein könnten (Anselmi et al., 2009; Bao et al., 2014; Barzilai et al., 2003; Di Bona et al., 2014; Soerensen et al., 2010). In dieser Studie wurde ebenfalls gezeigt, dass in der Subgruppe der Männer für einige SNVs in *FOXO3A* und *CETP* trotz der geringen Stichprobengröße meist stärkere Unterschiede in der Allelfrequenz zwischen der Fall- und Kontrollstichprobe zu beobachten waren (bei gleichzeitig höheren Unterschieden in den Odds Ratios). Zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Unterschiede sind jedoch große Stichproben notwendig, um mögliche falsch-positive Befunde zu minimieren.

Im Vergleich zu den Frauen haben Männer in der Regel eine geringere Lebenserwartung sowie eine höhere Mortalitätsrate und eine verringerte Anzahl an gesunden Lebensjahren (Austad, 2006; Baerlocher, 2007; Pinkhasov et al., 2010; Singh-Manoux et al., 2008). Im hohen Alter sind Männer jedoch gesünder (Franceschi et al., 2000b). Die Subgruppe der langlebigen Männer repräsentiert damit vermutlich auch einen stärkeren bzw. weniger heterogenen Phänotyp, so dass sich hier verstärkt genetische Effekte von SNVs zeigen.

Die nominell signifikanten SNVs in der *CETP*-Genregion könnten nicht nur geschlechts- sondern auch populationsspezifisch sein. Daher ist nicht auszuschließen, dass *CETP* eine Rolle beim Phänotyp Langlebigkeit spielt. Neben *CETP* konnte in dieser Studie auch *RAD50* als mögliches neues Kandidatengen identifiziert werden, welches an der DNA-Reparatur beteiligt ist (Hopfner et al., 2002; Kinoshita et al., 2009). Die Assoziationsbefunde für SNVs in *RAD50* konnten in der französischen Studienpopulation repliziert werden. Allerdings sollten weitere Replikationsstudien in unabhängigen Stichproben durchgeführt werden, um diese Befunde für SNVs in *RAD50* zu festigen.

An der Gen-Regulation sind möglicherweise v.a. SNVs in nicht-kodierenden Bereichen beteiligt, da alle mit Langlebigkeit assoziierten SNVs in der deutschen Studienpopulation lediglich in intronischen oder nicht-kodierenden exonischen Bereichen oder außerhalb der Genregion lokalisiert sind und zudem in einer relativ hohen Frequenz auftreten. Um auch seltene Varianten in potentiell regulatorischen Regionen zu detektieren, werden moderne Sequenzierungs-Technologien eingesetzt. Die Sequenzierung des gesamten Genoms und der gesamten exonischen Bereiche konnte bereits Hinweise über die Bedeutung von seltenen Varianten bei LLI geben (Cash et al., 2014; Freudenberg-Hua et al., 2014; Gierman et al., 2014; Sebastiani et al., 2011). Zukünftig werden neben genetischen Assoziationsstudien von

SNVs verstärkt weitere Forschungszweige wie z.B. Epigenetik, Transkriptom-, Proteom- und Mikrobiom-Analysen unter Berücksichtigung von Gen-Gen- und Gen-Umwelt-Interaktionen von Bedeutung sein, um eine weitere Aufklärung der sogenannten „fehlenden“ (also bisher noch weitestgehend unverstandenen) Heritabilität beim Phänotyp der Langlebigkeit zu ermöglichen (Cevenini et al., 2010; de Magalhaes et al., 2012; Tan et al., 2001; Valdes et al., 2013; West and Bergman, 2009).

6 Zusammenfassung

Die Variation in der Lebensspanne wird beim Menschen bis zu 30% durch genetische Faktoren beeinflusst, während ca. 70% dieser Variation auf Umweltbedingungen zurückzuführen ist. Bisher zeigen nur Einzelbasenvariationen (SNVs) in den Genen *Apolipoprotein E (APOE)* und *Forkhead-Box-Protein O3A (FOXO3A)* eine konsistente Assoziation mit Langlebigkeit beim Menschen in verschiedenen Populationen. Ziel der vorliegenden Studie war es daher, über Kandidatengenstudien und mittels Immunochip-Technologie neue Suszeptibilitätsfaktoren und funktionell relevante Varianten in der deutschen Population zu identifizieren. Kandidatengenstudien wurden jeweils für die *Superoxiddismutasen (SODs)*, das *Cholesterinester-Transferprotein (CETP)* und die *FOXO3A*-Genregion durchgeführt. Die SNV-Auswahl für die *SODs* und *CETP* erfolgte über einen umfassenden *haplotype tagging* Ansatz, während für die *FOXO3A*-Genregion drei verschiedene Sequenzierungs-Technologien (SOLiD, Illumina und Sanger) genutzt wurden, um potentielle funktionell relevante Varianten zu detektieren. In einem weiteren Ansatz sind mittels Immunochip-Technologie ca. 200.000 SNVs getestet worden. Der Immunochip umfasst genetische Varianten, die potentiell für immunvermittelte und altersbedingte Erkrankungen relevant sind.

In den *SOD*-Genen wurde kein SNV detektiert, der mit Langlebigkeit beim Menschen assoziiert ist. In der *CETP*-Genregion zeigten drei intronische SNVs eine nominell signifikante Assoziation mit Langlebigkeit. Mittels Sequenzierung und Genotypisierung wurden 54 signifikante SNVs in der nicht-kodierenden Region von *FOXO3A* detektiert. SNVs in den kodierenden Exons zeigten jedoch keine Assoziation mit Langlebigkeit auf. In einem explorativen Ansatz wurde der *FOXO3A*-SNV mit dem stärksten Assoziationssignal für eine anschließende funktionelle Charakterisierung ausgewählt. In diesem Versuch wurde erstmals gezeigt, dass ein SNV in *FOXO3A* die allelspezifische Bindung eines Transkriptionsfaktors in Pankreaszellen vermittelt. Dieser Transkriptionsfaktor ist v.a. an der glukoseabhängigen Regulation der Insulin-Genexpression beteiligt. Da Insulin im Pankreas synthetisiert wird und *FOXO3A* eine zentrale Rolle im Insulin-Signalweg spielt, verweisen diese Befunde auf einen zelltyp-spezifischen Regulationsmechanismus von *FOXO3A*, welcher wahrscheinlich durch die detektierte Variante beeinflusst wird.

Durch den Immunochip wurde das *RAD50*-Gen (engl. *radiation sensitive*, *Saccharomyces cerevisiae* homolog) als neues Kandidatengen für Langlebigkeit identifiziert. Dieses Gen ist

maßgeblich an der DNA-Reparatur und der Aufrechterhaltung der Telomere beteiligt. Der Assoziationsbefund in *RAD50* wurde auch in einer französischen Population repliziert.

Die beobachteten Befunde für *FOXO3A* und *RAD50* verdeutlichen den Einfluss des Insulin-Signalwegs und von DNA-Reparatur-Mechanismen für den Phänotyp Langlebigkeit. SNVs in der *CETP*-Genregion könnten die Lipoprotein-Profile und somit das Risiko für Entzündungserkrankungen modulieren, da *CETP* eine zentrale Rolle im Lipoprotein-Metabolismus spielt. Jedoch sind zukünftig weitere Forschungszweige wie z.B. Epigenetik, Transkriptom-, Proteom- und Mikrobiom-Analysen sowie funktionelle Studien in unterschiedlichen Zell- und Gewebetypen erforderlich, um die Mechanismen, die zu einer Erhöhung der Lebensspanne beitragen, unter Berücksichtigung möglicher Gen-Gen- sowie Gen-Umwelt-Interaktionen weiter aufklären zu können.

7 Summary

Up to 30% of variation in human lifespan is influenced by genetic factors, whereas 70% is attributed to environmental factors. However, thus far, only single nucleotide variants (SNVs) in the *Apolipoprotein E* and *Forkhead box protein O3 (FOXO3A)* genes have been consistently associated with human longevity in many populations. The aim of the current study was, therefore, to identify new susceptibility loci and functional relevant variants for human longevity in a German population by candidate gene studies and immuno-chip technology. Individual candidate gene studies were performed for the *superoxide dismutases (SODs)*, the *cholesterol ester transfer protein (CETP)*, and the *FOXO3A* gene regions. Selection of SNVs for *SODs* and *CETP* was conducted using a comprehensive haplotype tagging approach while for the *FOXO3A* gene region, three different sequencing technologies (SOLiD, Illumina, and Sanger) were applied to detect potentially functional relevant variants. In a parallel approach, about 200,000 SNVs were tested using immuno-chip technology. The immuno-chip contains genetic variants that are thought to be relevant for immune mediated and age-related diseases.

In *SODs*, no SNVs associated with human longevity were detected. In the *CETP* gene region, three intronic SNVs showed nominally significant associations with human longevity. By sequencing and genotyping, 54 significantly associated SNVs were detected in non-coding regions of *FOXO3A*. However, SNVs in *FOXO3A*-coding exons did not show an association with longevity. In an exploratory approach, the *FOXO3A*-SNV with the strongest association signal was selected for subsequent functional characterization. In this experiment, it was shown for the first time that one SNV in *FOXO3A* confers allele-specific binding of a transcription factor in pancreatic cells. This transcription factor is involved in the glucose-dependent regulation of insulin gene expression. Since insulin is synthesized in the pancreas and because *FOXO3A* plays a central role in insulin signaling, these findings point to a cell-type-specific regulatory mechanism for *FOXO3A*, which might be potentially affected by the associated variant.

Using immuno-chip technology, the *RAD50* gene (*radiation sensitive, Saccharomyces cerevisiae homolog*) was identified as a new candidate gene for longevity. This gene is highly involved in DNA repair and telomere maintenance. The association finding for *RAD50* was also replicated in a French population.

The findings observed for *FOXO3A* and *RAD50* substantiate the influence of insulin signaling and DNA repair mechanisms for the longevity phenotype. SNVs in the *CETP* gene region might modulate lipoprotein profiles and consequently the risk for inflammatory diseases as *CETP* plays a central role in lipoprotein metabolism. However, additional research areas such as epigenetic, transcriptome, proteome and metabolome analyses as well as functional studies in different cell and tissue types considering gene-gene and gene-environment interactions are needed to further explain the underlying mechanisms that contribute to an increase in life span.

8 Anhang

Tabelle 8-1: Assoziationsbefunde für 19 SNVs in der *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion (1.612 LLI ≥ 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle. Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

Gene	Chr	SNV	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
SOD1	21	rs4998557	0,122	0,127	0,543	0,949	0,801-1,124
		rs2070424	0,071	0,067	0,557	1,069	0,855-1,337
		rs1041740	0,290	0,306	0,229	0,927	0,820-1,048
SOD2	6	rs6917589	0,225	0,231	0,563	0,963	0,846-1,096
		rs2842980	0,215	0,200	0,215	1,091	0,951-1,252
		rs7855	0,051	0,046	0,461	1,100	0,853-1,419
		rs8031	0,488	0,499	0,453	0,958	0,857-1,071
		rs5746141	0,056	0,055	0,864	1,021	0,805-1,295
		rs5746136	0,293	0,296	0,795	0,984	0,870-1,112
		rs5746133	0,010	0,008	0,408	1,283	0,711-2,316
		rs4880	0,502	0,494	0,587	1,031	0,924-1,149
SOD3	4	rs13306703	0,093	0,095	0,790	0,974	0,804-1,180
		rs8192287	0,066	0,063	0,716	1,042	0,835-1,301
		rs699473	0,335	0,335	0,974	0,998	0,890-1,120
		rs17881426	0,091	0,098	0,365	0,916	0,756-1,108
		rs1007991	0,327	0,325	0,895	1,008	0,894-1,137
		rs2536512	0,344	0,340	0,748	1,019	0,909-1,143
		rs8192291	0,198	0,179	0,095	1,128	0,979-1,298
		rs8192290	0,024	0,030	0,238	0,813	0,577-1,147

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

Tabelle 8-2: Haplotypanalyse für SNVs in der *SOD1*-, *SOD2*- und *SOD3*-Genregion (748 LLI \geq 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen). Achtzehn der insgesamt 19 getesteten SNVs formen vier Haplotypblöcke.

Haplotypen	Gesamte Studienpopulation (1.612 LLI \geq 95 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen)			Subpopulation (748 LLI \geq 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen)		
	Frequenz LLI	Frequenz Kontrollen	p-Wert	Frequenz LLI	Frequenz Kontrollen	p-Wert
Block 1/ <i>SOD1</i>						
GAC	0,578	0,567	0,535	0,590	0,567	0,109
GAT	0,304	0,306	0,884	0,290	0,306	0,204
AGC	0,072	0,067	0,595	0,073	0,068	0,469
AAC	0,046	0,059	0,099	0,048	0,059	0,077
Block 2/ <i>SOD2</i>						
TAAGGC	0,484	0,495	0,522	0,489	0,495	0,643
CATGAT	0,235	0,233	0,886	0,224	0,233	0,472
TTTGGT	0,201	0,199	0,837	0,212	0,199	0,248
TATAAT	0,059	0,055	0,613	0,056	0,055	0,868
Block 3/ <i>SOD3</i>						
CGTTG	0,649	0,64	0,592	0,641	0,640	0,906
CGCTC	0,201	0,202	0,935	0,208	0,202	0,615
TTCAC	0,065	0,061	0,688	0,066	0,061	0,504
CGCTG	0,035	0,034	0,960	0,034	0,034	0,900
TGCAC	0,025	0,030	0,417	0,024	0,030	0,230
CGTTC	0,023	0,023	0,940	0,023	0,023	0,922
Block 4/ <i>SOD3</i>						
AT	0,658	0,660	0,934	0,655	0,66	0,736
GC	0,199	0,180	0,149	0,198	0,18	0,105
GT	0,147	0,160	0,184	0,147	0,16	0,184

Tabelle 8-3: Assoziationsbefunde für SNVs in der *CETP*-Genregion (748 LLI \geq 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle. Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

Nr.	SNV	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs247616	0,332	0,312	0,210	1,095	0,950-1,263
2	rs6499863	0,174	0,184	0,441	0,935	0,787-1,11
3	rs12708967	0,169	0,183	0,288	0,910	0,765-1,083
4	rs3764261	0,331	0,314	0,288	1,081	0,937-1,247
5	rs4783961	0,496	0,494	0,894	1,009	0,884-1,152
6	rs4783962	0,246	0,233	0,345	1,078	0,922-1,260
7	rs1800775	0,496	0,470	0,123	1,109	0,972-1,266
8	rs708272	0,437	0,410	0,116	1,114	0,974-1,274
9	rs1864163	0,232	0,266	0,023	0,836	0,716-0,976
10	rs9929488	0,267	0,281	0,344	0,931	0,803-1,079
11	rs12597002	0,309	0,305	0,771	1,022	0,885-1,18
12	rs11076174	0,080	0,078	0,860	1,022	0,799-1,308
13	rs891142	0,001	0,002	0,251	0,305	0,036-2,614
14	rs7205804	0,450	0,417	0,047	1,145	1,002-1,309
15	rs12708974	0,112	0,103	0,424	1,091	0,881-1,351
16	rs11076175	0,154	0,179	0,044	0,831	0,695-0,995
17	rs9930761	0,066	0,071	0,561	0,925	0,712-1,203
18	rs5883	0,060	0,063	0,737	0,954	0,724-1,256
19	rs289714	0,155	0,170	0,248	0,899	0,751-1,077
20	rs4784744	0,352	0,355	0,866	0,988	0,860-1,135
21	rs12720898	0,061	0,065	0,593	0,928	0,706-1,220
22	rs891144	0,009	0,012	0,363	0,734	0,376-1,433
23	rs1800774	0,340	0,352	0,456	0,948	0,825-1,090
24	rs5882	0,316	0,322	0,693	0,971	0,840-1,123

	SNV	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
25	rs9923854	0,122	0,106	0,140	1,168	0,950-1,436
26	rs1800777	0,027	0,027	0,977	1,006	0,671-1,509
27	rs1801706	0,186	0,172	0,273	1,101	0,927-1,308
28	rs289742	0,130	0,131	0,891	0,986	0,810-1,201
29	rs12720917	0,157	0,156	0,950	1,006	0,838-1,208
30	rs289745	0,379	0,368	0,476	1,051	0,916-1,206
31	rs17369163	0,135	0,136	0,940	0,993	0,818-1,205
32	rs12934552	0,140	0,129	0,341	1,099	0,905-1,334

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

Tabelle 8-4: Geschlechtsspezifische Assoziationsanalyse für 32 SNVs in der *CETP*-Genregion (748 LLI ≥ 100 Jahre und 1.104 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Für den jeweiligen SNV sind die Frequenzen des seltenen Alleles, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für Männer und Frauen angegeben. Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

Nr.	SNV	Geschlecht	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
			Frauen n=602 Männer n=146	Frauen n=821 Männer n=283			
1	rs247616	Frauen	0,327	0,305	0,213	1,109	0,943-1,304
		Männer	0,350	0,331	0,586	1,087	0,805-1,468
2	rs6499863	Frauen	0,169	0,183	0,324	0,906	0,744-1,102
		Männer	0,195	0,186	0,749	1,060	0,741-1,518
3	rs12708967	Frauen	0,177	0,185	0,594	0,948	0,781-1,152
		Männer	0,139	0,178	0,141	0,743	0,499-1,105
4	rs3764261	Frauen	0,325	0,308	0,336	1,083	0,920-1,276
		Männer	0,354	0,331	0,514	1,106	0,818-1,495
5	rs4783961	Frauen	0,501	0,490	0,556	1,046	0,900-1,215
		Männer	0,475	0,505	0,409	0,886	0,666-1,180
6	rs4783962	Frauen	0,239	0,235	0,835	1,019	0,853-1,218
		Männer	0,278	0,226	0,094	1,321	0,953-1,831
7	rs1800775	Frauen	0,505	0,468	0,053	1,159	0,998-1,346
		Männer	0,458	0,475	0,629	0,932	0,700-1,240
8	rs708272	Frauen	0,441	0,412	0,137	1,122	0,964-1,307
		Männer	0,420	0,404	0,670	1,066	0,795-1,429
9	rs1864163	Frauen	0,233	0,264	0,060	0,846	0,710-1,007
		Männer	0,230	0,270	0,209	0,806	0,575-1,129
10	rs9929488	Frauen	0,269	0,271	0,921	0,992	0,838-1,173
		Männer	0,260	0,313	0,110	0,773	0,564-1,061
11	rs12597002	Frauen	0,299	0,314	0,401	0,932	0,792-1,098
		Männer	0,354	0,279	0,027	1,415	1,040-1,926
12	rs11076174	Frauen	0,082	0,076	0,585	1,081	0,818-1,428
		Männer	0,072	0,085	0,537	0,843	0,490-1,451
13	rs891142	Frauen	0,001	0,002	0,326	0,350	0,039-3,134
		Männer	0,000	0,002	0,486	NA	NA
14	rs7205804	Frauen	0,455	0,415	0,035	1,177	1,011-1,369
		Männer	0,432	0,424	0,822	1,034	0,774-1,381
15	rs12708974	Frauen	0,119	0,110	0,492	1,086	0,858-1,374
		Männer	0,082	0,083	0,965	0,988	0,587-1,663

Nr.	SNV	Geschlecht	MAF ^a	MAF ^a	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
			LLI	Kontrollen			
			Frauen n=602	Frauen n=821			
			Männer n=146	Männer n=283			
16	rs11076175	Frauen	0,156	0,174	0,215	0,879	0,717-1,078
		Männer	0,143	0,194	0,065	0,691	0,466-1,025
17	rs9930761	Frauen	0,070	0,070	0,980	0,996	0,742-1,337
		Männer	0,053	0,076	0,216	0,683	0,373-1,252
18	rs5883	Frauen	0,064	0,063	0,937	1,013	0,745-1,377
		Männer	0,046	0,064	0,314	0,717	0,374-1,374
19	rs289714	Frauen	0,159	0,164	0,683	0,959	0,782-1,175
		Männer	0,142	0,186	0,112	0,726	0,488-1,078
20	rs4784744	Frauen	0,352	0,365	0,478	0,945	0,808-1,105
		Männer	0,355	0,327	0,420	1,132	0,838-1,528
21	rs12720898	Frauen	0,057	0,067	0,271	0,838	0,611-1,149
		Männer	0,080	0,062	0,319	1,324	0,761-2,305
22	rs891144	Frauen	0,010	0,010	0,960	1,019	0,480-2,163
		Männer	0,003	0,018	0,080	0,192	0,024-1,504
23	rs1800774	Frauen	0,333	0,350	0,363	0,929	0,793-1,089
		Männer	0,368	0,358	0,782	1,043	0,774-1,404
24	rs5882	Frauen	0,331	0,314	0,335	1,084	0,920-1,276
		Männer	0,248	0,345	0,005	0,627	0,451-0,871
25	rs9923854	Frauen	0,128	0,108	0,095	1,217	0,966-1,533
		Männer	0,096	0,101	0,798	0,940	0,584-1,513
26	rs1800777	Frauen	0,029	0,026	0,605	1,129	0,714-1,785
		Männer	0,021	0,032	0,384	0,662	0,260-1,686
27	rs1801706	Frauen	0,186	0,174	0,442	1,079	0,888-1,312
		Männer	0,188	0,165	0,403	1,172	0,808-1,701
28	rs289742	Frauen	0,137	0,124	0,292	1,127	0,902-1,407
		Männer	0,099	0,154	0,029	0,607	0,386-0,954
29	rs12720917	Frauen	0,170	0,158	0,411	1,089	0,889-1,334
		Männer	0,102	0,150	0,056	0,644	0,409-1,014
30	rs289745	Frauen	0,377	0,367	0,572	1,046	0,895-1,222
		Männer	0,387	0,369	0,621	1,078	0,801-1,451
31	rs17369163	Frauen	0,128	0,139	0,422	0,913	0,732-1,140
		Männer	0,163	0,127	0,158	1,337	0,893-2,002
32	rs12934552	Frauen	0,140	0,127	0,305	1,122	0,900-1,399
		Männer	0,138	0,134	0,892	1,029	0,677-1,565

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

Tabelle 8-5: *In silico* Analyse für rs5882 und rs180077 unter Anwendung von Polyphen-2, MutPred, PhyloP, SNAP, SNPs&Go und SIFT.

ID (Substitution)	Polyphen-2 (Hum-Div)				Grantham Score		Mutpred				
	Prediction	Score	sensivity	specificity	Score		Prediction	Top5features			
rs5882 (V422I)	benign	0,001	0,99	0,15	29	conservative	0,162	Gain of phosphorylation at S421 (P = 0,1994) Loss of disorder (P = 0,212) Gain of helix (P = 0,2684) Loss of loop (P = 0,4412) Gain of glycosylation at S419 (P = 0,5387)			
rs1800777 (R468Q)	benign	0,003	0,98	0,44	43	conservative	0,224	Loss of stability (P = 0,0699) Loss of sheet (P = 0,0817) Loss of solvent accessibility (P = 0,4436) Gain of catalytic residue at F471 (P = 0,4868) Gain of helix (P = 0,5668)			
	PhyloP			SNAP		SNPs&GO			SIFT		
ID	Score	norm. Score	Inter-pretation	Prediction	RI	Accuracy	Prediction	RI	Prediction	Score	MI
rs5882 (V422I)	-1,48253	0,0164	not conserved	Neutral	1	60%	Neutral	9	Tolerant	1	3,06
rs1800777 (R468Q)	-1,30810	0,0245	not conserved	Non-neutral	2	70%	Neutral	7	Tolerant	1	2,95

Tabelle 8-6: Detektierte SNVs in der *FOXO3A*-Genregion unter Anwendung der SOLiD-Technologie. Gelistet sind die SNV-Position, SNV-ID, Referenzallel, mutiertes Allel, SNV-Lokalisation und die Frequenz des seltenen Allels. Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
1	chr6	108965153	rs9480861	C	T	Nähe 5'UTR	0.191	0.159
2	chr6	108965535	snv_chr6_108965535	A	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
3	chr6	108966012	rs17531803	T	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
4	chr6	108966286	rs9374035	G	A	Nähe 5'UTR	0.279	0.250
5	chr6	108966714	snv_chr6_108966714	A	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
6	chr6	108967002	snv_chr6_108967002	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
7	chr6	108967010	snv_chr6_108967010	A	T	Nähe 5'UTR	0.368	0.500
8	chr6	108967071	snv_chr6_108967071	A	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
9	chr6	108967115	snv_chr6_108967115	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
10	chr6	108967944	snv_chr6_108967944	G	A	Nähe 5'UTR	0.029	0.068
11	chr6	108967957	rs1575676	C	T	Nähe 5'UTR	0.265	0.205
12	chr6	108968084	snv_chr6_108968084	T	C	Nähe 5'UTR	0.044	0.023
13	chr6	108968325	rs9386731	G	T	Nähe 5'UTR	0.044	0.045
14	chr6	108968523	snv_chr6_108968523	T	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
15	chr6	108968594	snv_chr6_108968594	T	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
16	chr6	108968831	snv_chr6_108968831	G	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
17	chr6	108968894	rs9374036	T	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
18	chr6	108968988	rs9386732	C	T	Nähe 5'UTR	0.044	0.045
19	chr6	108969344	snv_chr6_108969344	A	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
20	chr6	108969373	snv_chr6_108969373	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
21	chr6	108970125	rs9384677	C	A	Nähe 5'UTR	0.044	0.045
22	chr6	108970234	rs9384678	G	C	Nähe 5'UTR	0.044	0.045
23	chr6	108970346	snv_chr6_108970346	A	G	Nähe 5'UTR	0.088	0.136
24	chr6	108970747	snv_chr6_108970747	C	A	Nähe 5'UTR	0.044	0.091

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
25	chr6	108970899	snv_chr6_108970899	G	A	Nähe 5'UTR	0.044	0.091
26	chr6	108971057	rs12200544	T	G	Nähe 5'UTR	0.162	0.114
27	chr6	108971112	rs9384679	C	T	Nähe 5'UTR	0.191	0.114
28	chr6	108971395	snv_chr6_108971395	A	G	Nähe 5'UTR	0.044	0.091
29	chr6	108972151	snv_chr6_108972151	T	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
30	chr6	108972356	rs6927268	T	G	Nähe 5'UTR	0.176	0.182
31	chr6	108972856	snv_chr6_108972856	G	A	Nähe 5'UTR	0.029	0.000
32	chr6	108972956	snv_chr6_108972956	G	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
33	chr6	108973112	snv_chr6_108973112	C	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
34	chr6	108973263	rs17069632	T	C	Nähe 5'UTR	0.044	0.068
35	chr6	108973594	snv_chr6_108973594	A	G	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
36	chr6	108973724	rs6911407	C	A	Nähe 5'UTR	0.162	0.091
37	chr6	108973849	rs72940646	A	G	Nähe 5'UTR	0.029	0.068
38	chr6	108974817	snv_chr6_108974817	G	A	Nähe 5'UTR	0.044	0.000
39	chr6	108974975	snv_chr6_108974975	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
40	chr6	108975012	snv_chr6_108975012	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
41	chr6	108975025	snv_chr6_108975025	G	T	Nähe 5'UTR	0.059	0.114
42	chr6	108975067	snv_chr6_108975067	G	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
43	chr6	108975075	snv_chr6_108975075	G	A	Nähe 5'UTR	0.059	0.023
44	chr6	108975083	snv_chr6_108975083	G	A	Nähe 5'UTR	0.059	0.091
45	chr6	108975115	rs6918436	G	A	Nähe 5'UTR	0.132	0.068
46	chr6	108975130	snv_chr6_108975130	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
47	chr6	108975308	rs60358016	G	A	Nähe 5'UTR	0.059	0.136
48	chr6	108975843	rs72940650	C	T	Nähe 5'UTR	0.044	0.114
49	chr6	108975869	snv_chr6_108975869	T	C	Nähe 5'UTR	0.059	0.023
50	chr6	108975877	snv_chr6_108975877	T	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
51	chr6	108975923	rs72940651	G	A	Nähe 5'UTR	0.059	0.114
52	chr6	108975970	snv_chr6_108975970	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.045
53	chr6	108976150	snv_chr6_108976150	G	A	Nähe 5'UTR	0.059	0.114
54	chr6	108976199	snv_chr6_108976199	A	G	Nähe 5'UTR	0.044	0.136
55	chr6	108976207	rs72940652	C	T	Nähe 5'UTR	0.059	0.136
56	chr6	108976469	snv_chr6_108976469	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
57	chr6	108976473	snv_chr6_108976473	G	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
58	chr6	108976484	snv_chr6_108976484	A	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.045
59	chr6	108976506	snv_chr6_108976506	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.045
60	chr6	108976753	snv_chr6_108976753	T	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
61	chr6	108976784	snv_chr6_108976784	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.045
62	chr6	108976790	snv_chr6_108976790	T	C	Nähe 5'UTR	0.044	0.000
63	chr6	108976809	snv_chr6_108976809	C	T	Nähe 5'UTR	0.029	0.000
64	chr6	108976813	snv_chr6_108976813	T	G	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
65	chr6	108976830	snv_chr6_108976830	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
66	chr6	108976834	snv_chr6_108976834	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
67	chr6	108976840	snv_chr6_108976840	T	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
68	chr6	108976846	snv_chr6_108976846	A	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
69	chr6	108976847	snv_chr6_108976847	A	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
70	chr6	108976863	snv_chr6_108976863	A	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
71	chr6	108976870	snv_chr6_108976870	G	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
72	chr6	108976897	snv_chr6_108976897	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.045
73	chr6	108976905	snv_chr6_108976905	A	G	Nähe 5'UTR	0.029	0.045
74	chr6	108976907	snv_chr6_108976907	T	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.045
75	chr6	108976933	snv_chr6_108976933	A	G	Nähe 5'UTR	0.044	0.068
76	chr6	108976957	snv_chr6_108976957	T	C	Nähe 5'UTR	0.029	0.045
77	chr6	108976962	snv_chr6_108976962	T	C	Nähe 5'UTR	0.029	0.045
78	chr6	108977046	rs6930527	G	A	Nähe 5'UTR	0.059	0.114
79	chr6	108977420	rs72940654	G	T	Nähe 5'UTR	0.059	0.114
80	chr6	108977750	snv_chr6_108977750	G	C	Nähe 5'UTR	0.044	0.068
81	chr6	108978508	snv_chr6_108978508	C	T	Nähe 5'UTR	0.029	0.068
82	chr6	108978657	rs12198276	C	A	Nähe 5'UTR	0.176	0.114
83	chr6	108978679	snv_chr6_108978679	G	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
84	chr6	108978726	snv_chr6_108978726	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
85	chr6	108979047	snv_chr6_108979047	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
86	chr6	108979982	rs72940656	T	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
87	chr6	108980086	snv_chr6_108980086	C	T	Nähe 5'UTR	0.162	0.000
88	chr6	108980223	rs72940657	C	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.000
89	chr6	108980454	rs12174776	G	A	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
90	chr6	108980849	snv_chr6_108980849	A	T	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
91	chr6	108981044	rs9400238	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.023
92	chr6	108981258	rs9386734	A	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.045
93	chr6	108981521	rs17069635	C	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.045
94	chr6	108981928	snv_chr6_108981928	T	C	Nähe 5'UTR	0.015	0.023
95	chr6	108990852	rs9386735	C	T	Intron	0.029	0.068
96	chr6	108991102	rs9384680	T	G	Intron	0.044	0.091
97	chr6	108991428	rs9372188	C	T	Intron	0.044	0.091
98	chr6	108991584	rs9372189	C	T	Intron	0.029	0.068
99	chr6	108992316	rs1536057	C	T	Intron	0.250	0.159
100	chr6	108992771	snv_chr6_108992771	G	A	Intron	0.000	0.023
101	chr6	108993196	snv_chr6_108993196	G	A	Intron	0.015	0.000
102	chr6	108993452	snv_chr6_108993452	G	A	Intron	0.044	0.068
103	chr6	108993895	snv_chr6_108993895	C	T	Intron	0.015	0.023
104	chr6	108994251	rs72940674	C	T	Intron	0.044	0.091
105	chr6	108995063	snv_chr6_108995063	T	C	Intron	0.015	0.000
106	chr6	108995096	snv_chr6_108995096	G	A	Intron	0.015	0.000
107	chr6	108995133	rs1892492	A	G	Intron	0.029	0.000
108	chr6	108995223	rs17532174	G	T	Intron	0.029	0.068
109	chr6	108995286	rs2253310	C	G	Intron	0.176	0.068
110	chr6	108995554	snv_chr6_108995554	T	C	Intron	0.015	0.045
111	chr6	108995561	snv_chr6_108995561	T	G	Intron	0.029	0.068
112	chr6	108995634	snv_chr6_108995634	C	T	Intron	0.000	0.023
113	chr6	108995635	snv_chr6_108995635	G	A	Intron	0.000	0.023
114	chr6	108995713	snv_chr6_108995713	T	C	Intron	0.059	0.114
115	chr6	108995830	snv_chr6_108995830	G	T	Intron	0.015	0.000
116	chr6	108995854	snv_chr6_108995854	G	A	Intron	0.015	0.000
117	chr6	108995858	snv_chr6_108995858	T	C	Intron	0.044	0.023
118	chr6	108995866	snv_chr6_108995866	C	A	Intron	0.000	0.045
119	chr6	108995868	snv_chr6_108995868	T	C	Intron	0.029	0.023
120	chr6	108995904	snv_chr6_108995904	G	A	Intron	0.015	0.023
121	chr6	108995932	snv_chr6_108995932	G	A	Intron	0.029	0.045
122	chr6	108995975	snv_chr6_108995975	G	A	Intron	0.029	0.068
123	chr6	108995998	snv_chr6_108995998	G	A	Intron	0.029	0.045
124	chr6	108996003	snv_chr6_108996003	A	G	Intron	0.015	0.023
125	chr6	108996324	rs35214426	T	C	Intron	0.044	0.114
126	chr6	108996515	rs9372190	T	G	Intron	0.044	0.114
127	chr6	108996660	snv_chr6_108996660	C	G	Intron	0.000	0.023
128	chr6	108996762	rs9384681	A	G	Intron	0.044	0.091
129	chr6	108997914	snv_chr6_108997914	G	T	Intron	0.015	0.000
130	chr6	108997938	snv_chr6_108997938	T	C	Intron	0.044	0.091
131	chr6	108997981	snv_chr6_108997981	C	T	Intron	0.015	0.000
132	chr6	108998043	snv_chr6_108998043	T	C	Intron	0.000	0.023
133	chr6	108998078	snv_chr6_108998078	T	G	Intron	0.000	0.068
134	chr6	108998090	snv_chr6_108998090	C	T	Intron	0.044	0.045
135	chr6	108998103	snv_chr6_108998103	G	A	Intron	0.015	0.000
136	chr6	108998122	snv_chr6_108998122	G	C	Intron	0.029	0.023
137	chr6	108998128	snv_chr6_108998128	C	T	Intron	0.000	0.023
138	chr6	108998237	snv_chr6_108998237	C	T	Intron	0.015	0.023
139	chr6	108998252	snv_chr6_108998252	T	C	Intron	0.000	0.045
140	chr6	108998928	rs12055603	A	G	Intron	0.044	0.068
141	chr6	108999592	snv_chr6_108999592	A	G	Intron	0.015	0.023
142	chr6	109000405	rs72940678	C	G	Intron	0.044	0.068
143	chr6	109000520	snv_chr6_109000520	A	T	Intron	0.000	0.023
144	chr6	109000909	rs1536058	G	A	Intron	0.015	0.023
145	chr6	109000946	snv_chr6_109000946	A	G	Intron	0.074	0.023
146	chr6	109000957	snv_chr6_109000957	C	T	Intron	0.015	0.000
147	chr6	109000978	snv_chr6_109000978	C	G	Intron	0.000	0.023
148	chr6	109001003	snv_chr6_109001003	A	T	Intron	0.000	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
149	chr6	109001065	snv_chr6_109001065	A	C	Intron	0.015	0.000
150	chr6	109001195	snv_chr6_109001195	A	G	Intron	0.015	0.000
151	chr6	109001471	snv_chr6_109001471	A	C	Intron	0.029	0.000
152	chr6	109001500	snv_chr6_109001500	C	G	Intron	0.015	0.000
153	chr6	109001615	snv_chr6_109001615	C	T	Intron	0.015	0.000
154	chr6	109001632	snv_chr6_109001632	G	A	Intron	0.015	0.000
155	chr6	109001639	snv_chr6_109001639	T	C	Intron	0.015	0.000
156	chr6	109001649	snv_chr6_109001649	C	T	Intron	0.000	0.023
157	chr6	109001775	snv_chr6_109001775	C	T	Intron	0.044	0.091
158	chr6	109001815	snv_chr6_109001815	C	T	Intron	0.015	0.000
159	chr6	109001821	snv_chr6_109001821	A	G	Intron	0.015	0.045
160	chr6	109001863	snv_chr6_109001863	G	C	Intron	0.029	0.000
161	chr6	109001910	snv_chr6_109001910	G	T	Intron	0.000	0.023
162	chr6	109001931	rs6899495	C	T	Intron	0.294	0.159
163	chr6	109001961	snv_chr6_109001961	C	T	Intron	0.044	0.023
164	chr6	109001967	snv_chr6_109001967	A	G	Intron	0.044	0.000
165	chr6	109002066	rs72940679	A	G	Intron	0.044	0.068
166	chr6	109002079	rs2490272	C	T	Intron	0.176	0.091
167	chr6	109002485	rs57099886	G	A	Intron	0.044	0.091
168	chr6	109002630	snv_chr6_109002630	G	A	Intron	0.015	0.000
169	chr6	109002908	rs2802288	A	G	Intron	0.191	0.091
170	chr6	109002921	snv_chr6_109002921	A	G	Intron	0.015	0.000
171	chr6	109003022	snv_chr6_109003022	G	T	Intron	0.044	0.091
172	chr6	109004079	rs2883881	A	G	Intron	0.044	0.136
173	chr6	109004354	rs12200646	G	A	Intron	0.147	0.114
174	chr6	109005231	snv_chr6_109005231	T	C	Intron	0.000	0.023
175	chr6	109006213	snv_chr6_109006213	T	A	Intron	0.015	0.000
176	chr6	109006528	rs9384683	T	G	Intron	0.044	0.136
177	chr6	109008100	snv_chr6_109008100	T	C	Intron	0.029	0.000
178	chr6	109008105	snv_chr6_109008105	G	A	Intron	0.044	0.000
179	chr6	109008131	snv_chr6_109008131	C	G	Intron	0.015	0.000
180	chr6	109008141	snv_chr6_109008141	G	A	Intron	0.250	0.205
181	chr6	109008204	snv_chr6_109008204	G	C	Intron	0.044	0.000
182	chr6	109008307	snv_chr6_109008307	C	T	Intron	0.029	0.000
183	chr6	109008348	snv_chr6_109008348	T	C	Intron	0.000	0.023
184	chr6	109008832	rs7747393	C	T	Intron	0.235	0.341
185	chr6	109008852	snv_chr6_109008852	G	C	Intron	0.015	0.000
186	chr6	109008873	rs10499051	A	G	Intron	0.044	0.136
187	chr6	109009521	snv_chr6_109009521	G	A	Intron	0.000	0.023
188	chr6	109010078	rs17598170	C	G	Intron	0.044	0.068
189	chr6	109011708	snv_chr6_109011708	A	C	Intron	0.029	0.000
190	chr6	109016211	snv_chr6_109016211	C	T	Intron	0.000	0.023
191	chr6	109017126	snv_chr6_109017126	T	C	Intron	0.000	0.023
192	chr6	109017228	snv_chr6_109017228	C	T	Intron	0.000	0.023
193	chr6	109017764	rs17532552	A	C	Intron	0.044	0.091
194	chr6	109018666	rs72940694	A	G	Intron	0.044	0.091
195	chr6	109019381	rs72940696	C	G	Intron	0.059	0.045
196	chr6	109019894	rs13220810	T	C	Intron	0.162	0.091
197	chr6	109020366	snv_chr6_109020366	C	T	Intron	0.015	0.000
198	chr6	109021404	snv_chr6_109021404	G	T	Intron	0.015	0.000
199	chr6	109021427	snv_chr6_109021427	C	G	Intron	0.015	0.000
200	chr6	109021503	snv_chr6_109021503	G	A	Intron	0.015	0.000
201	chr6	109021681	snv_chr6_109021681	T	A	Intron	0.029	0.023
202	chr6	109021716	snv_chr6_109021716	G	C	Intron	0.015	0.000
203	chr6	109022840	snv_chr6_109022840	T	G	Intron	0.000	0.023
204	chr6	109023072	rs17532573	G	A	Intron	0.044	0.091
205	chr6	109023266	rs9480865	T	C	Intron	0.235	0.114
206	chr6	109023762	rs9386740	G	A	Intron	0.044	0.068
207	chr6	109023839	snv_chr6_109023839	A	G	Intron	0.015	0.000
208	chr6	109024381	rs17069647	T	A	Intron	0.059	0.159
209	chr6	109024476	rs17532643	G	A	Intron	0.044	0.091
210	chr6	109024947	snv_chr6_109024947	G	A	Intron	0.000	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
211	chr6	109026211	snv_chr6_109026211	T	C	Intron	0.015	0.000
212	chr6	109026339	rs55758249	A	G	Intron	0.044	0.068
213	chr6	109026420	snv_chr6_109026420	G	A	Intron	0.015	0.000
214	chr6	109026663	rs9386741	A	G	Intron	0.044	0.068
215	chr6	109026891	snv_chr6_109026891	T	C	Intron	0.000	0.045
216	chr6	109027282	rs2802293	A	G	Intron	0.015	0.000
217	chr6	109027553	snv_chr6_109027553	C	T	Intron	0.015	0.000
218	chr6	109027850	rs58157973	A	G	Intron	0.162	0.136
219	chr6	109028224	snv_chr6_109028224	C	T	Intron	0.000	0.023
220	chr6	109028225	snv_chr6_109028225	C	T	Intron	0.000	0.023
221	chr6	109028240	rs2802294	A	G	Intron	0.088	0.159
222	chr6	109028311	snv_chr6_109028311	T	C	Intron	0.000	0.023
223	chr6	109028336	snv_chr6_109028336	C	A	Intron	0.000	0.023
224	chr6	109028341	snv_chr6_109028341	A	G	Intron	0.000	0.023
225	chr6	109028418	snv_chr6_109028418	A	G	Intron	0.000	0.023
226	chr6	109028886	snv_chr6_109028886	T	C	Intron	0.015	0.000
227	chr6	109028996	snv_chr6_109028996	G	C	Intron	0.000	0.023
228	chr6	109029025	rs12196602	T	A	Intron	0.162	0.114
229	chr6	109029035	snv_chr6_109029035	G	C	Intron	0.015	0.000
230	chr6	109029062	snv_chr6_109029062	C	G	Intron	0.000	0.023
231	chr6	109029112	snv_chr6_109029112	G	T	Intron	0.015	0.000
232	chr6	109029118	snv_chr6_109029118	C	T	Intron	0.044	0.068
233	chr6	109029119	snv_chr6_109029119	G	A	Intron	0.059	0.023
234	chr6	109029161	snv_chr6_109029161	G	A	Intron	0.000	0.023
235	chr6	109029242	snv_chr6_109029242	T	C	Intron	0.000	0.023
236	chr6	109029295	snv_chr6_109029295	T	G	Intron	0.000	0.023
237	chr6	109029319	rs9386742	C	T	Intron	0.044	0.068
238	chr6	109029482	snv_chr6_109029482	G	A	Intron	0.000	0.023
239	chr6	109029978	snv_chr6_109029978	C	A	Intron	0.015	0.000
240	chr6	109030218	rs9372191	T	C	Intron	0.044	0.068
241	chr6	109031482	rs7775621	A	G	Intron	0.044	0.091
242	chr6	109032649	rs72942509	G	A	Intron	0.029	0.068
243	chr6	109033070	snv_chr6_109033070	A	G	Intron	0.015	0.000
244	chr6	109033122	snv_chr6_109033122	T	C	Intron	0.029	0.023
245	chr6	109033145	snv_chr6_109033145	A	G	Intron	0.044	0.023
246	chr6	109033178	snv_chr6_109033178	A	C	Intron	0.029	0.023
247	chr6	109033189	rs2802295	A	G	Intron	0.118	0.091
248	chr6	109033217	snv_chr6_109033217	A	G	Intron	0.029	0.023
249	chr6	109033221	snv_chr6_109033221	G	C	Intron	0.000	0.091
250	chr6	109033231	snv_chr6_109033231	T	A	Intron	0.015	0.023
251	chr6	109033234	snv_chr6_109033234	C	T	Intron	0.029	0.000
252	chr6	109033239	snv_chr6_109033239	T	C	Intron	0.000	0.023
253	chr6	109033248	snv_chr6_109033248	T	C	Intron	0.029	0.023
254	chr6	109033250	snv_chr6_109033250	T	C	Intron	0.015	0.000
255	chr6	109033259	snv_chr6_109033259	T	C	Intron	0.015	0.045
256	chr6	109033825	snv_chr6_109033825	A	G	Intron	0.015	0.000
257	chr6	109034361	snv_chr6_109034361	A	G	Intron	0.015	0.000
258	chr6	109034534	rs7753734	C	T	Intron	0.294	0.114
259	chr6	109034535	rs2764261	A	G	Intron	0.176	0.091
260	chr6	109034864	rs7754626	G	A	Intron	0.176	0.114
261	chr6	109034935	snv_chr6_109034935	T	A	Intron	0.044	0.068
262	chr6	109035073	rs72942514	C	T	Intron	0.029	0.068
263	chr6	109035083	snv_chr6_109035083	C	T	Intron	0.000	0.023
264	chr6	109035108	snv_chr6_109035108	A	G	Intron	0.000	0.045
265	chr6	109035146	snv_chr6_109035146	A	G	Intron	0.088	0.068
266	chr6	109035159	snv_chr6_109035159	G	C	Intron	0.015	0.000
267	chr6	109035282	snv_chr6_109035282	G	A	Intron	0.000	0.023
268	chr6	109035368	rs61541825	G	A	Intron	0.074	0.114
269	chr6	109035643	snv_chr6_109035643	G	A	Intron	0.000	0.023
270	chr6	109039323	snv_chr6_109039323	A	T	Intron	0.029	0.000
271	chr6	109039339	snv_chr6_109039339	C	T	Intron	0.029	0.000
272	chr6	109039341	snv_chr6_109039341	G	A	Intron	0.015	0.000

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
273	chr6	109040301	snv_chr6_109040301	C	A	Intron	0.000	0.023
274	chr6	109040314	snv_chr6_109040314	G	A	Intron	0.059	0.091
275	chr6	109040315	snv_chr6_109040315	C	T	Intron	0.000	0.023
276	chr6	109040328	snv_chr6_109040328	G	T	Intron	0.015	0.000
277	chr6	109040341	snv_chr6_109040341	T	C	Intron	0.015	0.023
278	chr6	109040346	snv_chr6_109040346	T	C	Intron	0.074	0.045
279	chr6	109040358	snv_chr6_109040358	C	A	Intron	0.015	0.000
280	chr6	109040365	snv_chr6_109040365	A	C	Intron	0.132	0.318
281	chr6	109040366	snv_chr6_109040366	A	T	Intron	0.353	0.364
282	chr6	109040387	snv_chr6_109040387	C	G	Intron	0.000	0.045
283	chr6	109040391	snv_chr6_109040391	G	T	Intron	0.015	0.000
284	chr6	109040405	snv_chr6_109040405	A	G	Intron	0.118	0.091
285	chr6	109040413	snv_chr6_109040413	T	C	Intron	0.015	0.000
286	chr6	109040415	snv_chr6_109040415	G	A	Intron	0.250	0.295
287	chr6	109040430	snv_chr6_109040430	G	C	Intron	0.029	0.000
288	chr6	109040432	snv_chr6_109040432	T	C	Intron	0.118	0.159
289	chr6	109040437	snv_chr6_109040437	G	C	Intron	0.015	0.000
290	chr6	109040448	snv_chr6_109040448	C	G	Intron	0.015	0.000
291	chr6	109040450	snv_chr6_109040450	C	T	Intron	0.000	0.023
292	chr6	109040451	snv_chr6_109040451	C	A	Intron	0.000	0.023
293	chr6	109040461	snv_chr6_109040461	G	A	Intron	0.338	0.341
294	chr6	109040463	snv_chr6_109040463	C	T	Intron	0.015	0.000
295	chr6	109040469	snv_chr6_109040469	A	G	Intron	0.176	0.068
296	chr6	109040478	snv_chr6_109040478	T	A	Intron	0.132	0.091
297	chr6	109040483	snv_chr6_109040483	G	C	Intron	0.029	0.000
298	chr6	109040484	snv_chr6_109040484	A	G	Intron	0.382	0.364
299	chr6	109040490	snv_chr6_109040490	T	C	Intron	0.103	0.136
300	chr6	109040498	snv_chr6_109040498	C	G	Intron	0.015	0.000
301	chr6	109040500	snv_chr6_109040500	C	A	Intron	0.029	0.000
302	chr6	109040508	snv_chr6_109040508	A	G	Intron	0.074	0.091
303	chr6	109040513	snv_chr6_109040513	T	G	Intron	0.000	0.023
304	chr6	109040519	snv_chr6_109040519	T	A	Intron	0.000	0.023
305	chr6	109040554	snv_chr6_109040554	T	G	Intron	0.000	0.023
306	chr6	109040560	snv_chr6_109040560	T	A	Intron	0.015	0.000
307	chr6	109040564	snv_chr6_109040564	G	A	Intron	0.029	0.091
308	chr6	109040606	snv_chr6_109040606	C	T	Intron	0.000	0.023
309	chr6	109041208	snv_chr6_109041208	C	T	Intron	0.000	0.023
310	chr6	109041219	snv_chr6_109041219	G	T	Intron	0.000	0.045
311	chr6	109042625	snv_chr6_109042625	A	T	Intron	0.015	0.023
312	chr6	109043905	snv_chr6_109043905	A	G	Intron	0.015	0.000
313	chr6	109043906	snv_chr6_109043906	A	C	Intron	0.015	0.000
314	chr6	109043907	snv_chr6_109043907	T	A	Intron	0.044	0.000
315	chr6	109043915	snv_chr6_109043915	A	C	Intron	0.029	0.045
316	chr6	109043933	snv_chr6_109043933	G	T	Intron	0.015	0.000
317	chr6	109043940	snv_chr6_109043940	A	G	Intron	0.324	0.318
318	chr6	109043951	snv_chr6_109043951	T	A	Intron	0.044	0.023
319	chr6	109043953	snv_chr6_109043953	G	A	Intron	0.029	0.023
320	chr6	109043959	snv_chr6_109043959	T	C	Intron	0.338	0.341
321	chr6	109043960	snv_chr6_109043960	T	G	Intron	0.029	0.023
322	chr6	109043961	snv_chr6_109043961	G	T	Intron	0.015	0.000
323	chr6	109043970	snv_chr6_109043970	G	A	Intron	0.029	0.023
324	chr6	109043971	snv_chr6_109043971	T	C	Intron	0.103	0.182
325	chr6	109043974	snv_chr6_109043974	C	G	Intron	0.000	0.023
326	chr6	109043977	snv_chr6_109043977	C	G	Intron	0.000	0.023
327	chr6	109043978	snv_chr6_109043978	A	C	Intron	0.000	0.023
328	chr6	109043986	snv_chr6_109043986	C	A	Intron	0.015	0.000
329	chr6	109044006	snv_chr6_109044006	C	T	Intron	0.000	0.023
330	chr6	109044037	snv_chr6_109044037	T	C	Intron	0.015	0.000
331	chr6	109044084	snv_chr6_109044084	A	G	Intron	0.059	0.023
332	chr6	109044092	snv_chr6_109044092	A	G	Intron	0.029	0.114
333	chr6	109044093	snv_chr6_109044093	T	C	Intron	0.309	0.318
334	chr6	109044099	snv_chr6_109044099	C	T	Intron	0.029	0.045

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
335	chr6	109044100	snv_chr6_109044100	G	A	Intron	0.000	0.068
336	chr6	109044109	snv_chr6_109044109	T	G	Intron	0.118	0.114
337	chr6	109044110	snv_chr6_109044110	G	T	Intron	0.044	0.045
338	chr6	109044122	snv_chr6_109044122	G	A	Intron	0.029	0.023
339	chr6	109044139	snv_chr6_109044139	C	A	Intron	0.000	0.023
340	chr6	109044152	snv_chr6_109044152	G	C	Intron	0.265	0.227
341	chr6	109044159	snv_chr6_109044159	C	T	Intron	0.015	0.000
342	chr6	109044162	snv_chr6_109044162	A	T	Intron	0.000	0.023
343	chr6	109044173	snv_chr6_109044173	A	G	Intron	0.382	0.364
344	chr6	109044186	snv_chr6_109044186	G	A	Intron	0.059	0.000
345	chr6	109044197	snv_chr6_109044197	A	G	Intron	0.000	0.023
346	chr6	109044198	snv_chr6_109044198	C	T	Intron	0.029	0.000
347	chr6	109044202	snv_chr6_109044202	A	T	Intron	0.015	0.000
348	chr6	109044208	snv_chr6_109044208	C	A	Intron	0.015	0.023
349	chr6	109044210	snv_chr6_109044210	A	G	Intron	0.132	0.045
350	chr6	109044212	snv_chr6_109044212	C	A	Intron	0.015	0.000
351	chr6	109044220	snv_chr6_109044220	C	T	Intron	0.000	0.023
352	chr6	109044231	snv_chr6_109044231	T	A	Intron	0.191	0.136
353	chr6	109044235	snv_chr6_109044235	A	T	Intron	0.044	0.136
354	chr6	109044248	snv_chr6_109044248	G	A	Intron	0.074	0.114
355	chr6	109044259	snv_chr6_109044259	A	G	Intron	0.088	0.205
356	chr6	109044260	snv_chr6_109044260	T	C	Intron	0.147	0.068
357	chr6	109044264	snv_chr6_109044264	A	G	Intron	0.015	0.045
358	chr6	109044265	snv_chr6_109044265	G	A	Intron	0.000	0.023
359	chr6	109044269	snv_chr6_109044269	A	T	Intron	0.015	0.000
360	chr6	109044270	snv_chr6_109044270	G	A	Intron	0.015	0.000
361	chr6	109044279	snv_chr6_109044279	G	A	Intron	0.029	0.000
362	chr6	109044285	snv_chr6_109044285	C	T	Intron	0.000	0.023
363	chr6	109044292	snv_chr6_109044292	T	C	Intron	0.206	0.205
364	chr6	109044299	snv_chr6_109044299	C	T	Intron	0.029	0.045
365	chr6	109044300	snv_chr6_109044300	A	G	Intron	0.147	0.136
366	chr6	109044306	snv_chr6_109044306	C	A	Intron	0.000	0.023
367	chr6	109044309	snv_chr6_109044309	T	A	Intron	0.074	0.045
368	chr6	109044326	snv_chr6_109044326	G	A	Intron	0.309	0.250
369	chr6	109044338	snv_chr6_109044338	G	A	Intron	0.309	0.295
370	chr6	109044344	snv_chr6_109044344	C	A	Intron	0.015	0.023
371	chr6	109044354	snv_chr6_109044354	G	T	Intron	0.000	0.023
372	chr6	109044358	snv_chr6_109044358	A	T	Intron	0.000	0.023
373	chr6	109044361	snv_chr6_109044361	G	T	Intron	0.015	0.023
374	chr6	109044380	snv_chr6_109044380	A	G	Intron	0.294	0.227
375	chr6	109044390	snv_chr6_109044390	C	T	Intron	0.044	0.045
376	chr6	109044391	snv_chr6_109044391	G	T	Intron	0.015	0.000
377	chr6	109044400	snv_chr6_109044400	G	T	Intron	0.015	0.000
378	chr6	109044405	snv_chr6_109044405	G	A	Intron	0.015	0.000
379	chr6	109044422	snv_chr6_109044422	G	A	Intron	0.044	0.114
380	chr6	109044423	snv_chr6_109044423	C	A	Intron	0.000	0.023
381	chr6	109044441	snv_chr6_109044441	A	C	Intron	0.000	0.045
382	chr6	109044459	snv_chr6_109044459	C	T	Intron	0.015	0.045
383	chr6	109044464	snv_chr6_109044464	A	G	Intron	0.029	0.045
384	chr6	109044468	snv_chr6_109044468	C	G	Intron	0.000	0.023
385	chr6	109044469	snv_chr6_109044469	A	C	Intron	0.044	0.000
386	chr6	109044477	snv_chr6_109044477	G	A	Intron	0.059	0.045
387	chr6	109044493	snv_chr6_109044493	A	T	Intron	0.000	0.023
388	chr6	109044495	snv_chr6_109044495	A	G	Intron	0.015	0.045
389	chr6	109045518	snv_chr6_109045518	A	T	Intron	0.015	0.000
390	chr6	109045521	snv_chr6_109045521	G	T	Intron	0.015	0.000
391	chr6	109045776	rs12202234	C	G	Intron	0.147	0.091
392	chr6	109045936	snv_chr6_109045936	G	A	Intron	0.000	0.023
393	chr6	109046693	snv_chr6_109046693	C	A	Intron	0.015	0.068
394	chr6	109046973	rs7341233	T	C	Intron	0.147	0.114
395	chr6	109047506	snv_chr6_109047506	C	G	Intron	0.000	0.023
396	chr6	109047770	snv_chr6_109047770	A	G	Intron	0.000	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
397	chr6	109048086	rs17598747	A	G	Intron	0.147	0.068
398	chr6	109048161	rs17069665	A	G	Intron	0.162	0.114
399	chr6	109048572	snv_chr6_109048572	C	A	Intron	0.074	0.091
400	chr6	109049116	snv_chr6_109049116	G	A	Intron	0.015	0.000
401	chr6	109050038	snv_chr6_109050038	C	A	Intron	0.000	0.023
402	chr6	109050134	snv_chr6_109050134	G	A	Intron	0.000	0.023
403	chr6	109050159	snv_chr6_109050159	A	T	Intron	0.074	0.068
404	chr6	109050629	snv_chr6_109050629	C	T	Intron	0.000	0.023
405	chr6	109050858	rs3813498	C	T	Intron	0.279	0.136
406	chr6	109051298	snv_chr6_109051298	C	T	Intron	0.000	0.023
407	chr6	109051800	rs7762395	G	A	Intron	0.265	0.136
408	chr6	109052063	rs2022464	A	C	Intron	0.250	0.159
409	chr6	109052622	snv_chr6_109052622	T	G	Intron	0.000	0.023
410	chr6	109052711	snv_chr6_109052711	A	C	Intron	0.015	0.000
411	chr6	109053733	snv_chr6_109053733	A	G	Intron	0.000	0.023
412	chr6	109055034	snv_chr6_109055034	T	A	Intron	0.029	0.091
413	chr6	109055795	rs72942587	G	A	Intron	0.044	0.068
414	chr6	109055970	rs62428909	G	A	Intron	0.029	0.045
415	chr6	109056538	rs17069673	A	G	Intron	0.000	0.023
416	chr6	109056836	snv_chr6_109056836	A	G	Intron	0.000	0.023
417	chr6	109057247	snv_chr6_109057247	C	T	Intron	0.015	0.000
418	chr6	109058348	rs9285397	T	C	Intron	0.309	0.182
419	chr6	109058569	rs72942591	C	G	Intron	0.029	0.068
420	chr6	109058661	rs12213895	T	A	Intron	0.147	0.045
421	chr6	109059030	rs4946930	G	A	Intron	0.294	0.159
422	chr6	109060668	rs13207511	A	G	Intron	0.191	0.091
423	chr6	109061778	snv_chr6_109061778	C	T	Intron	0.015	0.000
424	chr6	109061892	snv_chr6_109061892	C	A	Intron	0.044	0.091
425	chr6	109062554	rs73763154	T	C	Intron	0.103	0.068
426	chr6	109062715	snv_chr6_109062715	T	A	Intron	0.015	0.000
427	chr6	109062995	snv_chr6_109062995	A	G	Intron	0.029	0.000
428	chr6	109063003	snv_chr6_109063003	T	C	Intron	0.044	0.045
429	chr6	109063008	snv_chr6_109063008	C	G	Intron	0.015	0.000
430	chr6	109063066	snv_chr6_109063066	A	G	Intron	0.029	0.045
431	chr6	109063069	snv_chr6_109063069	C	A	Intron	0.015	0.000
432	chr6	109063073	snv_chr6_109063073	T	C	Intron	0.000	0.023
433	chr6	109063084	snv_chr6_109063084	T	C	Intron	0.074	0.000
434	chr6	109063092	snv_chr6_109063092	A	G	Intron	0.074	0.045
435	chr6	109063104	snv_chr6_109063104	T	G	Intron	0.029	0.023
436	chr6	109063105	snv_chr6_109063105	G	A	Intron	0.015	0.000
437	chr6	109063111	snv_chr6_109063111	T	C	Intron	0.015	0.000
438	chr6	109063112	snv_chr6_109063112	T	G	Intron	0.029	0.023
439	chr6	109063121	snv_chr6_109063121	C	T	Intron	0.015	0.000
440	chr6	109063130	snv_chr6_109063130	G	A	Intron	0.015	0.000
441	chr6	109063139	snv_chr6_109063139	G	A	Intron	0.015	0.000
442	chr6	109063160	snv_chr6_109063160	T	C	Intron	0.015	0.000
443	chr6	109063161	snv_chr6_109063161	G	A	Intron	0.044	0.000
444	chr6	109063174	snv_chr6_109063174	G	C	Intron	0.015	0.023
445	chr6	109063176	snv_chr6_109063176	G	C	Intron	0.015	0.000
446	chr6	109063178	snv_chr6_109063178	A	C	Intron	0.029	0.000
447	chr6	109063181	snv_chr6_109063181	A	G	Intron	0.015	0.000
448	chr6	109063197	snv_chr6_109063197	A	T	Intron	0.029	0.000
449	chr6	109063216	snv_chr6_109063216	T	A	Intron	0.015	0.000
450	chr6	109063852	snv_chr6_109063852	A	G	Intron	0.015	0.000
451	chr6	109064125	rs72942595	G	A	Intron	0.103	0.068
452	chr6	109064223	rs17310529	T	C	Intron	0.088	0.068
453	chr6	109064350	snv_chr6_109064350	A	T	Intron	0.015	0.000
454	chr6	109064382	snv_chr6_109064382	C	G	Intron	0.015	0.205
455	chr6	109064626	snv_chr6_109064626	C	A	Intron	0.000	0.023
456	chr6	109064759	snv_chr6_109064759	C	G	Intron	0.015	0.000
457	chr6	109065172	snv_chr6_109065172	A	G	Intron	0.000	0.023
458	chr6	109066591	snv_chr6_109066591	C	T	Intron	0.015	0.000

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
459	chr6	109066603	snv_chr6_109066603	T	G	Intron	0.000	0.023
460	chr6	109066718	rs12202209	T	G	Intron	0.103	0.068
461	chr6	109066914	snv_chr6_109066914	T	A	Intron	0.000	0.023
462	chr6	109067533	rs9486913	C	G	Intron	0.206	0.114
463	chr6	109067550	snv_chr6_109067550	T	C	Intron	0.000	0.023
464	chr6	109067801	snv_chr6_109067801	A	G	Intron	0.000	0.023
465	chr6	109067996	rs58451520	C	T	Intron	0.029	0.068
466	chr6	109068035	snv_chr6_109068035	G	A	Intron	0.029	0.000
467	chr6	109068219	snv_chr6_109068219	C	T	Intron	0.000	0.023
468	chr6	109068873	snv_chr6_109068873	A	G	Intron	0.029	0.000
469	chr6	109068878	snv_chr6_109068878	T	C	Intron	0.015	0.000
470	chr6	109068916	snv_chr6_109068916	A	C	Intron	0.029	0.000
471	chr6	109068933	snv_chr6_109068933	A	G	Intron	0.015	0.000
472	chr6	109068941	snv_chr6_109068941	G	A	Intron	0.000	0.068
473	chr6	109068942	snv_chr6_109068942	G	A	Intron	0.044	0.023
474	chr6	109068990	snv_chr6_109068990	G	A	Intron	0.015	0.023
475	chr6	109069003	snv_chr6_109069003	A	T	Intron	0.015	0.114
476	chr6	109069043	snv_chr6_109069043	C	T	Intron	0.912	0.955
477	chr6	109069067	snv_chr6_109069067	G	C	Intron	0.015	0.000
478	chr6	109069335	rs9480866	C	T	Intron	0.221	0.159
479	chr6	109069788	snv_chr6_109069788	G	A	Intron	0.000	0.023
480	chr6	109070007	snv_chr6_109070007	C	T	Intron	0.015	0.000
481	chr6	109070138	snv_chr6_109070138	T	C	Intron	0.000	0.023
482	chr6	109070327	snv_chr6_109070327	G	A	Intron	0.000	0.023
483	chr6	109071578	rs12207868	A	G	Intron	0.147	0.068
484	chr6	109071732	rs10457180	G	A	Intron	0.235	0.136
485	chr6	109072246	snv_chr6_109072246	G	A	Intron	0.000	0.023
486	chr6	109072806	rs1935953	C	T	Intron	0.000	0.023
487	chr6	109073105	snv_chr6_109073105	C	A	Intron	0.000	0.023
488	chr6	109074592	snv_chr6_109074592	G	A	Intron	0.015	0.000
489	chr6	109074884	snv_chr6_109074884	C	A	Intron	0.000	0.023
490	chr6	109075124	snv_chr6_109075124	T	G	Intron	0.015	0.000
491	chr6	109075186	snv_chr6_109075186	A	G	Intron	0.015	0.000
492	chr6	109075212	snv_chr6_109075212	A	G	Intron	0.015	0.000
493	chr6	109075370	rs12202049	G	C	Intron	0.147	0.068
494	chr6	109075492	rs72944303	A	C	Intron	0.015	0.068
495	chr6	109076028	rs72944305	C	T	Intron	0.015	0.068
496	chr6	109076279	rs7744829	T	C	Intron	0.000	0.023
497	chr6	109077077	snv_chr6_109077077	G	T	Intron	0.000	0.023
498	chr6	109077373	rs12209092	A	G	Intron	0.147	0.068
499	chr6	109077406	snv_chr6_109077406	C	G	Intron	0.029	0.023
500	chr6	109077753	rs71558326	G	T	Intron	0.191	0.091
501	chr6	109078349	rs12197634	G	C	Intron	0.147	0.068
502	chr6	109079395	rs72944310	C	T	Intron	0.029	0.068
503	chr6	109079418	snv_chr6_109079418	G	A	Intron	0.000	0.023
504	chr6	109079754	snv_chr6_109079754	G	A	Intron	0.015	0.000
505	chr6	109079854	snv_chr6_109079854	A	G	Intron	0.015	0.000
506	chr6	109080285	snv_chr6_109080285	A	G	Intron	0.000	0.023
507	chr6	109080574	snv_chr6_109080574	T	C	Intron	0.000	0.023
508	chr6	109080595	rs72944313	C	T	Intron	0.029	0.068
509	chr6	109080791	rs13217795	C	T	Intron	0.191	0.114
510	chr6	109081146	rs11153120	C	A	Intron	0.147	0.068
511	chr6	109081271	rs12154031	C	G	Intron	0.147	0.068
512	chr6	109081439	rs4946932	A	C	Intron	0.221	0.159
513	chr6	109081570	snv_chr6_109081570	T	C	Intron	0.000	0.023
514	chr6	109082157	rs12203787	C	G	Intron	0.147	0.091
515	chr6	109082255	rs12203834	C	T	Intron	0.147	0.091
516	chr6	109082339	rs9480867	G	A	Intron	0.250	0.159
517	chr6	109082522	snv_chr6_109082522	C	G	Intron	0.000	0.023
518	chr6	109083800	rs7772662	A	G	Intron	0.147	0.091
519	chr6	109084356	rs9400239	T	C	Intron	0.221	0.159
520	chr6	109085999	snv_chr6_109085999	C	T	Intron	0.162	0.114

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
521	chr6	109086489	snv_chr6_109086489	G	C	Intron	0.000	0.023
522	chr6	109086588	rs57990675	A	G	Intron	0.029	0.023
523	chr6	109086639	rs56826508	T	A	Intron	0.000	0.023
524	chr6	109086809	rs59629924	T	C	Intron	0.000	0.023
525	chr6	109086878	snv_chr6_109086878	A	T	Intron	0.029	0.000
526	chr6	109086969	snv_chr6_109086969	C	T	Intron	0.000	0.023
527	chr6	109086979	snv_chr6_109086979	C	T	Intron	0.147	0.295
528	chr6	109087305	snv_chr6_109087305	G	A	Intron	0.015	0.023
529	chr6	109087737	snv_chr6_109087737	G	A	Intron	0.000	0.023
530	chr6	109087810	rs4946933	A	G	Intron	0.029	0.068
531	chr6	109087889	rs12212067	T	G	Intron	0.162	0.068
532	chr6	109088031	rs56924132	G	C	Intron	0.000	0.023
533	chr6	109088286	snv_chr6_109088286	C	T	Intron	0.000	0.023
534	chr6	109088828	snv_chr6_109088828	T	C	Intron	0.015	0.000
535	chr6	109088840	snv_chr6_109088840	T	C	Intron	0.074	0.136
536	chr6	109088861	snv_chr6_109088861	C	T	Intron	0.015	0.000
537	chr6	109088877	snv_chr6_109088877	A	G	Intron	0.000	0.023
538	chr6	109088878	snv_chr6_109088878	C	T	Intron	0.000	0.023
539	chr6	109088879	snv_chr6_109088879	C	G	Intron	0.015	0.000
540	chr6	109088888	snv_chr6_109088888	A	G	Intron	0.015	0.045
541	chr6	109088892	snv_chr6_109088892	C	G	Intron	0.000	0.023
542	chr6	109088899	snv_chr6_109088899	T	C	Intron	0.015	0.000
543	chr6	109088933	snv_chr6_109088933	G	A	Intron	0.000	0.023
544	chr6	109088942	snv_chr6_109088942	C	A	Intron	0.015	0.000
545	chr6	109088948	snv_chr6_109088948	T	A	Intron	0.015	0.000
546	chr6	109088975	rs11153121	C	T	Intron	0.147	0.045
547	chr6	109089053	snv_chr6_109089053	A	G	Intron	0.029	0.000
548	chr6	109089120	snv_chr6_109089120	A	T	Intron	0.015	0.000
549	chr6	109089232	rs58334534	G	A	Intron	0.221	0.159
550	chr6	109089285	snv_chr6_109089285	G	C	Intron	0.221	0.432
551	chr6	109089855	snv_chr6_109089855	T	C	Intron	0.044	0.000
552	chr6	109090152	snv_chr6_109090152	G	A	Intron	0.015	0.000
553	chr6	109090220	rs9398171	C	T	Intron	0.250	0.136
554	chr6	109090280	snv_chr6_109090280	C	T	Intron	0.000	0.023
555	chr6	109090553	snv_chr6_109090553	C	T	Intron	0.015	0.000
556	chr6	109090675	snv_chr6_109090675	G	A	Intron	0.000	0.023
557	chr6	109090760	rs12196996	A	G	Intron	0.147	0.045
558	chr6	109091006	snv_chr6_109091006	T	C	Intron	0.015	0.000
559	chr6	109091037	snv_chr6_109091037	C	G	Intron	0.029	0.000
560	chr6	109091173	snv_chr6_109091173	C	T	Intron	0.015	0.000
561	chr6	109091192	snv_chr6_109091192	G	A	Intron	0.000	0.023
562	chr6	109091212	snv_chr6_109091212	C	G	Intron	0.015	0.000
563	chr6	109091310	snv_chr6_109091310	C	T	Intron	0.015	0.000
564	chr6	109093451	snv_chr6_109093451	T	G	Intron	0.000	0.023
565	chr6	109093513	snv_chr6_109093513	C	T	Intron	0.029	0.000
566	chr6	109093514	snv_chr6_109093514	A	G	Intron	0.029	0.000
567	chr6	109093524	snv_chr6_109093524	A	C	Intron	0.015	0.023
568	chr6	109093532	snv_chr6_109093532	C	A	Intron	0.015	0.000
569	chr6	109093534	snv_chr6_109093534	T	C	Intron	0.015	0.000
570	chr6	109093555	snv_chr6_109093555	G	A	Intron	0.015	0.000
571	chr6	109093585	snv_chr6_109093585	A	G	Intron	0.015	0.000
572	chr6	109093591	snv_chr6_109093591	A	G	Intron	0.000	0.023
573	chr6	109093620	snv_chr6_109093620	C	G	Intron	0.000	0.023
574	chr6	109093625	snv_chr6_109093625	T	C	Intron	0.015	0.000
575	chr6	109093637	snv_chr6_109093637	T	C	Intron	0.015	0.023
576	chr6	109093652	snv_chr6_109093652	T	C	Intron	0.294	0.364
577	chr6	109093653	snv_chr6_109093653	C	T	Intron	0.309	0.273
578	chr6	109093655	snv_chr6_109093655	T	A	Intron	0.015	0.000
579	chr6	109093659	snv_chr6_109093659	C	T	Intron	0.221	0.182
580	chr6	109093669	snv_chr6_109093669	C	T	Intron	0.000	0.023
581	chr6	109093676	snv_chr6_109093676	T	G	Intron	0.029	0.023
582	chr6	109094234	snv_chr6_109094234	C	T	Intron	0.118	0.273

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
583	chr6	109094235	snv_chr6_109094235	T	C	Intron	0.074	0.114
584	chr6	109094240	snv_chr6_109094240	C	T	Intron	0.118	0.091
585	chr6	109094257	snv_chr6_109094257	A	T	Intron	0.015	0.000
586	chr6	109094262	snv_chr6_109094262	T	C	Intron	0.206	0.182
587	chr6	109094271	snv_chr6_109094271	T	G	Intron	0.059	0.023
588	chr6	109094273	snv_chr6_109094273	C	T	Intron	0.015	0.000
589	chr6	109094293	snv_chr6_109094293	G	C	Intron	0.015	0.000
590	chr6	109094295	snv_chr6_109094295	G	T	Intron	0.015	0.000
591	chr6	109094300	snv_chr6_109094300	C	G	Intron	0.000	0.023
592	chr6	109094305	snv_chr6_109094305	C	T	Intron	0.015	0.023
593	chr6	109094313	snv_chr6_109094313	G	C	Intron	0.044	0.000
594	chr6	109094322	snv_chr6_109094322	T	C	Intron	0.397	0.318
595	chr6	109094323	snv_chr6_109094323	C	G	Intron	0.000	0.023
596	chr6	109094324	snv_chr6_109094324	C	T	Intron	0.059	0.000
597	chr6	109094325	snv_chr6_109094325	A	G	Intron	0.044	0.091
598	chr6	109094356	snv_chr6_109094356	T	A	Intron	0.015	0.000
599	chr6	109094361	snv_chr6_109094361	A	G	Intron	0.176	0.227
600	chr6	109094369	snv_chr6_109094369	C	T	Intron	0.000	0.023
601	chr6	109094388	snv_chr6_109094388	C	T	Intron	0.015	0.000
602	chr6	109094389	snv_chr6_109094389	G	A	Intron	0.206	0.227
603	chr6	109094397	snv_chr6_109094397	A	G	Intron	0.015	0.000
604	chr6	109094398	snv_chr6_109094398	A	T	Intron	0.015	0.000
605	chr6	109094446	snv_chr6_109094446	C	T	Intron	0.015	0.000
606	chr6	109094479	snv_chr6_109094479	T	G	Intron	0.015	0.000
607	chr6	109094481	snv_chr6_109094481	C	A	Intron	0.015	0.000
608	chr6	109094542	snv_chr6_109094542	A	T	Intron	0.000	0.023
609	chr6	109096750	snv_chr6_109096750	C	T	Intron	0.132	0.159
610	chr6	109096751	snv_chr6_109096751	A	T	Intron	0.000	0.023
611	chr6	109096755	snv_chr6_109096755	G	A	Intron	0.029	0.023
612	chr6	109096759	snv_chr6_109096759	A	T	Intron	0.015	0.000
613	chr6	109096760	snv_chr6_109096760	C	G	Intron	0.015	0.000
614	chr6	109096761	snv_chr6_109096761	G	C	Intron	0.015	0.000
615	chr6	109096788	snv_chr6_109096788	C	T	Intron	0.029	0.136
616	chr6	109096792	snv_chr6_109096792	A	G	Intron	0.338	0.409
617	chr6	109096793	snv_chr6_109096793	C	T	Intron	0.044	0.023
618	chr6	109096796	snv_chr6_109096796	G	A	Intron	0.015	0.000
619	chr6	109096797	snv_chr6_109096797	T	C	Intron	0.059	0.114
620	chr6	109096804	snv_chr6_109096804	T	C	Intron	0.088	0.068
621	chr6	109096805	snv_chr6_109096805	G	A	Intron	0.029	0.136
622	chr6	109096818	snv_chr6_109096818	C	G	Intron	0.015	0.000
623	chr6	109096819	snv_chr6_109096819	G	A	Intron	0.015	0.023
624	chr6	109096858	snv_chr6_109096858	A	G	Intron	0.000	0.045
625	chr6	109096866	snv_chr6_109096866	G	C	Intron	0.015	0.000
626	chr6	109096871	snv_chr6_109096871	G	A	Intron	0.088	0.045
627	chr6	109096881	snv_chr6_109096881	G	A	Intron	0.044	0.023
628	chr6	109096883	snv_chr6_109096883	C	T	Intron	0.015	0.000
629	chr6	109096890	snv_chr6_109096890	C	G	Intron	0.015	0.000
630	chr6	109096903	snv_chr6_109096903	A	G	Intron	0.132	0.159
631	chr6	109096925	snv_chr6_109096925	C	G	Intron	0.000	0.023
632	chr6	109096934	snv_chr6_109096934	A	G	Intron	0.235	0.273
633	chr6	109096948	snv_chr6_109096948	G	A	Intron	0.000	0.023
634	chr6	109096949	snv_chr6_109096949	C	T	Intron	0.015	0.000
635	chr6	109096961	snv_chr6_109096961	A	T	Intron	0.000	0.045
636	chr6	109096962	snv_chr6_109096962	C	T	Intron	0.250	0.273
637	chr6	109096977	snv_chr6_109096977	G	T	Intron	0.015	0.023
638	chr6	109096984	snv_chr6_109096984	G	A	Intron	0.000	0.045
639	chr6	109096987	snv_chr6_109096987	T	C	Intron	0.368	0.227
640	chr6	109096995	snv_chr6_109096995	C	G	Intron	0.015	0.000
641	chr6	109097011	snv_chr6_109097011	A	T	Intron	0.029	0.023
642	chr6	109097015	snv_chr6_109097015	T	G	Intron	0.000	0.023
643	chr6	109097498	snv_chr6_109097498	C	T	Intron	0.015	0.000
644	chr6	109097625	snv_chr6_109097625	G	A	Intron	0.000	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
645	chr6	109097683	rs62428930	T	A	Intron	0.015	0.045
646	chr6	109097961	rs6939128	T	C	Intron	0.015	0.000
647	chr6	109098048	snv_chr6_109098048	T	C	Intron	0.000	0.023
648	chr6	109098086	snv_chr6_109098086	T	G	Intron	0.015	0.000
649	chr6	109098304	snv_chr6_109098304	C	A	Intron	0.000	0.023
650	chr6	109098379	rs73763159	G	T	Intron	0.147	0.045
651	chr6	109098499	rs4945815	T	C	Intron	0.015	0.000
652	chr6	109098781	snv_chr6_109098781	G	A	Intron	0.000	0.023
653	chr6	109099339	rs3778587	G	A	Intron	0.015	0.000
654	chr6	109099378	rs57012130	G	A	Intron	0.015	0.000
655	chr6	109099673	snv_chr6_109099673	G	A	Intron	0.000	0.023
656	chr6	109100854	rs3800227	A	G	Intron	0.235	0.091
657	chr6	109101126	rs35396874	C	T	Intron	0.250	0.091
658	chr6	109101519	rs9398172	G	A	Intron	0.250	0.114
659	chr6	109101562	snv_chr6_109101562	G	A	Intron	0.015	0.000
660	chr6	109101653	snv_chr6_109101653	G	A	Intron	0.015	0.000
661	chr6	109101880	rs61192764	A	G	Intron	0.176	0.136
662	chr6	109102073	snv_chr6_109102073	G	T	Intron	0.000	0.023
663	chr6	109102667	snv_chr6_109102667	C	T	Intron	0.015	0.000
664	chr6	109103216	snv_chr6_109103216	G	T	Intron	0.015	0.023
665	chr6	109103246	rs3778588	T	C	Intron	0.250	0.136
666	chr6	109103269	snv_chr6_109103269	C	T	Intron	0.015	0.000
667	chr6	109103270	snv_chr6_109103270	G	A	Intron	0.000	0.023
668	chr6	109103340	rs72944329	A	G	Intron	0.015	0.068
669	chr6	109103441	rs3800228	T	G	Intron	0.250	0.114
670	chr6	109103656	rs3800229	G	T	Intron	0.250	0.136
671	chr6	109104128	rs9374040	G	A	Intron	0.250	0.114
672	chr6	109104304	rs9400240	G	A	Intron	0.250	0.114
673	chr6	109104344	snv_chr6_109104344	C	T	Intron	0.000	0.023
674	chr6	109104358	snv_chr6_109104358	C	G	Intron	0.015	0.000
675	chr6	109104821	rs3800230	T	G	Intron	0.162	0.136
676	chr6	109104959	rs3800231	A	G	Intron	0.250	0.136
677	chr6	109105598	snv_chr6_109105598	G	C	Intron	0.250	0.159
678	chr6	109105646	rs3800232	C	T	Intron	0.162	0.136
679	chr6	109105711	snv_chr6_109105711	G	A	Intron	0.000	0.023
680	chr6	109105794	snv_chr6_109105794	G	A	Intron	0.206	0.091
681	chr6	109105888	rs1935950	A	G	Intron	0.015	0.000
682	chr6	109105980	rs1935949	A	G	Intron	0.250	0.114
683	chr6	109106666	snv_chr6_109106666	G	A	Intron	0.015	0.000
684	chr6	109106693	snv_chr6_109106693	A	G	Intron	0.044	0.000
685	chr6	109106704	snv_chr6_109106704	T	A	Intron	0.015	0.000
686	chr6	109106725	snv_chr6_109106725	T	A	Intron	0.029	0.023
687	chr6	109106786	rs13208954	T	C	Intron	0.265	0.114
688	chr6	109106809	snv_chr6_109106809	T	C	Intron	0.029	0.000
689	chr6	109106822	snv_chr6_109106822	C	T	Intron	0.029	0.000
690	chr6	109106853	snv_chr6_109106853	T	C	Intron	0.029	0.000
691	chr6	109106859	snv_chr6_109106859	T	C	Intron	0.015	0.023
692	chr6	109106872	snv_chr6_109106872	A	G	Intron	0.000	0.045
693	chr6	109106892	snv_chr6_109106892	C	T	Intron	0.044	0.045
694	chr6	109107009	rs9398173	T	C	Intron	0.029	0.114
695	chr6	109107024	rs9320266	T	C	Intron	0.059	0.000
696	chr6	109107168	snv_chr6_109107168	A	C	Intron	0.059	0.023
697	chr6	109107338	snv_chr6_109107338	C	T	Intron	0.000	0.023
698	chr6	109107435	rs4946935	A	G	Intron	0.235	0.091
699	chr6	109108735	rs4945816	C	T	3'UTR	0.250	0.023
700	chr6	109109689	snv_chr6_109109689	C	T	3'UTR	0.015	0.000
701	chr6	109110014	rs4946936	T	C	3'UTR	0.265	0.136
702	chr6	109110316	snv_chr6_109110316	A	G	3'UTR	0.015	0.000
703	chr6	109110653	snv_chr6_109110653	A	G	3'UTR	0.015	0.000
704	chr6	109110682	rs9400241	C	A	3'UTR	0.250	0.136
705	chr6	109110853	snv_chr6_109110853	G	A	3'UTR	0.044	0.045
706	chr6	109111717	snv_chr6_109111717	A	T	3'UTR	0.015	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
707	chr6	109112281	rs73519966	A	G	3'UTR	0.235	0.114
708	chr6	109113531	snv_chr6_109113531	A	T	Nähe 3'UTR	0.206	0.091
709	chr6	109113997	snv_chr6_109113997	C	G	Nähe 3'UTR	0.206	0.114
710	chr6	109114142	snv_chr6_109114142	T	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
711	chr6	109114215	rs1268170	A	G	Nähe 3'UTR	0.221	0.091
712	chr6	109114670	snv_chr6_109114670	T	G	Nähe 3'UTR	0.221	0.159
713	chr6	109114709	snv_chr6_109114709	T	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
714	chr6	109114851	snv_chr6_109114851	G	A	Nähe 3'UTR	0.206	0.205
715	chr6	109114876	snv_chr6_109114876	G	A	Nähe 3'UTR	0.206	0.159
716	chr6	109114925	snv_chr6_109114925	T	C	Nähe 3'UTR	0.206	0.136
717	chr6	109115071	snv_chr6_109115071	T	C	Nähe 3'UTR	0.265	0.159
718	chr6	109115109	rs1268164	A	G	Nähe 3'UTR	0.221	0.114
719	chr6	109115187	snv_chr6_109115187	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
720	chr6	109115267	snv_chr6_109115267	G	T	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
721	chr6	109115488	snv_chr6_109115488	G	A	Nähe 3'UTR	0.265	0.136
722	chr6	109115597	snv_chr6_109115597	A	G	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
723	chr6	109115691	rs1268163	C	T	Nähe 3'UTR	0.176	0.091
724	chr6	109115797	snv_chr6_109115797	A	G	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
725	chr6	109115887	rs1268162	A	G	Nähe 3'UTR	0.206	0.114
726	chr6	109116339	rs1935958	C	T	Nähe 3'UTR	0.279	0.136
727	chr6	109118020	snv_chr6_109118020	G	A	Nähe 3'UTR	0.059	0.091
728	chr6	109118081	snv_chr6_109118081	G	C	Nähe 3'UTR	0.059	0.091
729	chr6	109118526	snv_chr6_109118526	G	A	Nähe 3'UTR	0.059	0.068
730	chr6	109118710	snv_chr6_109118710	C	G	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
731	chr6	109119037	rs73519981	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
732	chr6	109119075	snv_chr6_109119075	A	G	Nähe 3'UTR	0.294	0.000
733	chr6	109119153	rs6937254	G	A	Nähe 3'UTR	0.147	0.273
734	chr6	109119403	snv_chr6_109119403	A	G	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
735	chr6	109120357	rs2207731	A	G	Nähe 3'UTR	0.044	0.114
736	chr6	109120623	rs9486916	C	T	Nähe 3'UTR	0.059	0.045
737	chr6	109120736	rs62428933	G	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
738	chr6	109120911	rs72944364	C	T	Nähe 3'UTR	0.029	0.000
739	chr6	109121054	snv_chr6_109121054	C	T	Nähe 3'UTR	0.044	0.000
740	chr6	109121066	snv_chr6_109121066	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.023
741	chr6	109121079	snv_chr6_109121079	G	C	Nähe 3'UTR	0.029	0.000
742	chr6	109121083	snv_chr6_109121083	G	A	Nähe 3'UTR	0.044	0.023
743	chr6	109121122	snv_chr6_109121122	C	A	Nähe 3'UTR	0.029	0.000
744	chr6	109121129	snv_chr6_109121129	C	T	Nähe 3'UTR	0.059	0.000
745	chr6	109121130	snv_chr6_109121130	G	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
746	chr6	109121136	snv_chr6_109121136	C	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
747	chr6	109121146	snv_chr6_109121146	T	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
748	chr6	109121160	snv_chr6_109121160	G	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
749	chr6	109121162	snv_chr6_109121162	G	A	Nähe 3'UTR	0.103	0.023
750	chr6	109121167	snv_chr6_109121167	T	C	Nähe 3'UTR	0.221	0.023
751	chr6	109121169	snv_chr6_109121169	G	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
752	chr6	109121187	snv_chr6_109121187	T	C	Nähe 3'UTR	0.132	0.000
753	chr6	109121916	snv_chr6_109121916	C	G	Nähe 3'UTR	0.147	0.136
754	chr6	109122011	snv_chr6_109122011	G	C	Nähe 3'UTR	0.029	0.068
755	chr6	109122013	snv_chr6_109122013	T	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
756	chr6	109122193	snv_chr6_109122193	C	G	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
757	chr6	109122207	snv_chr6_109122207	C	T	Nähe 3'UTR	0.088	0.000
758	chr6	109122210	snv_chr6_109122210	C	G	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
759	chr6	109122229	snv_chr6_109122229	C	T	Nähe 3'UTR	0.088	0.045
760	chr6	109122230	snv_chr6_109122230	A	G	Nähe 3'UTR	0.088	0.045
761	chr6	109122251	snv_chr6_109122251	G	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
762	chr6	109122260	snv_chr6_109122260	G	A	Nähe 3'UTR	0.118	0.114
763	chr6	109122273	snv_chr6_109122273	G	A	Nähe 3'UTR	0.088	0.091
764	chr6	109122274	snv_chr6_109122274	C	T	Nähe 3'UTR	0.074	0.045
765	chr6	109122276	snv_chr6_109122276	C	G	Nähe 3'UTR	0.074	0.045
766	chr6	109122278	snv_chr6_109122278	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
767	chr6	109122319	snv_chr6_109122319	T	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
768	chr6	109122320	snv_chr6_109122320	G	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
769	chr6	109122333	snv_chr6_109122333	A	G	Nähe 3'UTR	0.044	0.023
770	chr6	109122367	snv_chr6_109122367	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.023
771	chr6	109122385	snv_chr6_109122385	G	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
772	chr6	109122386	snv_chr6_109122386	G	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
773	chr6	109122390	snv_chr6_109122390	A	G	Nähe 3'UTR	0.044	0.045
774	chr6	109122406	snv_chr6_109122406	G	A	Nähe 3'UTR	0.029	0.000
775	chr6	109122814	snv_chr6_109122814	T	C	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
776	chr6	109122929	rs62428934	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.023
777	chr6	109123037	snv_chr6_109123037	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
778	chr6	109123149	snv_chr6_109123149	T	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
779	chr6	109123599	snv_chr6_109123599	A	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
780	chr6	109123614	snv_chr6_109123614	T	G	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
781	chr6	109123615	snv_chr6_109123615	G	T	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
782	chr6	109123731	rs9486917	C	T	Nähe 3'UTR	0.132	0.159
783	chr6	109123782	snv_chr6_109123782	C	T	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
784	chr6	109123930	snv_chr6_109123930	G	C	Nähe 3'UTR	0.103	0.159
785	chr6	109123977	snv_chr6_109123977	T	G	Nähe 3'UTR	0.118	0.091
786	chr6	109124015	rs1268177	A	G	Nähe 3'UTR	0.118	0.136
787	chr6	109124634	rs743052	G	T	Nähe 3'UTR	0.029	0.045
788	chr6	109124714	snv_chr6_109124714	G	A	Nähe 3'UTR	0.059	0.000
789	chr6	109124739	snv_chr6_109124739	G	A	Nähe 3'UTR	0.132	0.250
790	chr6	109124767	snv_chr6_109124767	C	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
791	chr6	109124772	snv_chr6_109124772	G	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
792	chr6	109124777	snv_chr6_109124777	G	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.023
793	chr6	109124783	snv_chr6_109124783	T	C	Nähe 3'UTR	0.029	0.023
794	chr6	109124838	snv_chr6_109124838	C	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
795	chr6	109124841	snv_chr6_109124841	T	C	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
796	chr6	109124842	snv_chr6_109124842	C	G	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
797	chr6	109124910	snv_chr6_109124910	T	C	Nähe 3'UTR	0.059	0.045
798	chr6	109125015	rs1268175	A	G	Nähe 3'UTR	0.103	0.136
799	chr6	109125507	snv_chr6_109125507	G	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.023
800	chr6	109125552	rs1268174	A	G	Nähe 3'UTR	0.118	0.136
801	chr6	109125789	snv_chr6_109125789	C	T	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
802	chr6	109126016	rs473268	C	A	Nähe 3'UTR	0.147	0.136
803	chr6	109126105	rs72944374	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.045
804	chr6	109126192	snv_chr6_109126192	G	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
805	chr6	109126299	snv_chr6_109126299	T	C	Nähe 3'UTR	0.309	0.182
806	chr6	109126381	snv_chr6_109126381	G	A	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
807	chr6	109126414	snv_chr6_109126414	G	A	Nähe 3'UTR	0.309	0.136
808	chr6	109126453	snv_chr6_109126453	C	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.023
809	chr6	109126725	rs479744	G	T	Nähe 3'UTR	0.338	0.227
810	chr6	109127025	snv_chr6_109127025	T	C	Nähe 3'UTR	0.235	0.182
811	chr6	109127239	snv_chr6_109127239	C	A	Nähe 3'UTR	0.029	0.000
812	chr6	109127327	rs4946938	T	C	Nähe 3'UTR	0.162	0.114
813	chr6	109127416	snv_chr6_109127416	G	T	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
814	chr6	109127782	snv_chr6_109127782	G	A	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
815	chr6	109128145	snv_chr6_109128145	A	G	Nähe 3'UTR	0.000	0.023
816	chr6	109128295	snv_chr6_109128295	A	G	Nähe 3'UTR	0.015	0.000
817	chr6	109128379	rs57567948	A	G	Nähe 3'UTR	0.044	0.023

* Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

Tabelle 8-7: Detektierte SNVs in der *FOXO3A*-Genregion unter Anwendung der Illumina-Technologie. Gelistet sind die SNV-Position, SNV-ID, Referenzallel, mutiertes Allel, SNV-Lokalisation und die Frequenz des seltenen Allels. Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
1	chr6	108965153	rs9480861	C	T	Nähe 5'UTR	0.542	0.543
2	chr6	108965535	rs146881972	A	G	Nähe 5'UTR	0.010	0.011
3	chr6	108966012	rs17531803	T	A	Nähe 5'UTR	0.031	0.065
4	chr6	108966286	rs9374035	G	A	Nähe 5'UTR	0.646	0.663
5	chr6	108966539	snv_chr6_108966539	G	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
6	chr6	108967066	rs143285316	A	G	Nähe 5'UTR	0.010	0.011
7	chr6	108967215	snv_chr6_108967215	C	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
8	chr6	108967287	snv_chr6_108967287	C	C	Nähe 5'UTR	0.052	0.022
9	chr6	108967289	snv_chr6_108967289	T	T	Nähe 5'UTR	0.021	0.022
10	chr6	108967290	snv_chr6_108967290	C	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.022
11	chr6	108967448	snv_chr6_108967448	G	G	Nähe 5'UTR	0.021	0.000
12	chr6	108967533	snv_chr6_108967533	T	T	Nähe 5'UTR	0.021	0.000
13	chr6	108967537	snv_chr6_108967537	A	A	Nähe 5'UTR	0.042	0.000
14	chr6	108967538	snv_chr6_108967538	T	T	Nähe 5'UTR	0.000	0.022
15	chr6	108967539	snv_chr6_108967539	C	C	Nähe 5'UTR	0.042	0.022
16	chr6	108967622	snv_chr6_108967622	A	T	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
17	chr6	108967625	snv_chr6_108967625	A	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.022
18	chr6	108967944	snv_chr6_108967944	G	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
19	chr6	108967957	rs1575676	C	T	Nähe 5'UTR	0.583	0.598
20	chr6	108968084	rs113213443	T	C	Nähe 5'UTR	0.042	0.043
21	chr6	108968325	rs9386731	G	T	Nähe 5'UTR	0.094	0.000
22	chr6	108968748	snv_chr6_108968748	C	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.022
23	chr6	108968759	snv_chr6_108968759	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
24	chr6	108968894	rs9374036	T	A	Nähe 5'UTR	0.073	0.000
25	chr6	108968940	rs139159056	C	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
26	chr6	108968988	rs9386732	C	T	Nähe 5'UTR	0.073	0.000
27	chr6	108970125	rs9384677	C	A	Nähe 5'UTR	0.094	0.000
28	chr6	108970234	rs9384678	G	C	Nähe 5'UTR	0.083	0.000
29	chr6	108970747	rs78622443	C	A	Nähe 5'UTR	0.042	0.054
30	chr6	108970899	rs111714276	G	A	Nähe 5'UTR	0.052	0.087
31	chr6	108971057	rs12200544	T	G	Nähe 5'UTR	0.135	0.152
32	chr6	108971112	rs9384679	C	T	Nähe 5'UTR	0.583	0.641
33	chr6	108971395	rs79420173	A	G	Nähe 5'UTR	0.052	0.098
34	chr6	108972151	rs74992912	T	C	Nähe 5'UTR	0.063	0.098
35	chr6	108972356	rs6927268	T	G	Nähe 5'UTR	0.229	0.239
36	chr6	108972773	snv_chr6_108972773	C	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
37	chr6	108972856	rs150763395	G	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.011
38	chr6	108972922	snv_chr6_108972922	C	T	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
39	chr6	108973263	rs17069632	T	C	Nähe 5'UTR	0.052	0.098
40	chr6	108973724	rs6911407	C	A	Nähe 5'UTR	0.531	0.630
41	chr6	108973849	rs72940646	A	G	Nähe 5'UTR	0.094	0.000
42	chr6	108975115	rs6918436	G	A	Nähe 5'UTR	0.500	0.587
43	chr6	108975130	rs112387222	G	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
44	chr6	108975308	rs60358016	G	A	Nähe 5'UTR	0.063	0.022
45	chr6	108975843	rs72940650	C	T	Nähe 5'UTR	0.125	0.098
46	chr6	108975923	rs72940651	G	A	Nähe 5'UTR	0.125	0.098
47	chr6	108976150	rs1408769	G	A	Nähe 5'UTR	0.083	0.098
48	chr6	108976199	rs80253479	A	G	Nähe 5'UTR	0.115	0.065
49	chr6	108976207	rs72940652	C	T	Nähe 5'UTR	0.021	0.033
50	chr6	108976752	rs193257849	T	C	Nähe 5'UTR	0.010	0.022
51	chr6	108977046	rs6930527	G	A	Nähe 5'UTR	0.135	0.098
52	chr6	108977420	rs72940654	G	T	Nähe 5'UTR	0.135	0.098
53	chr6	108977750	rs77626104	G	C	Nähe 5'UTR	0.052	0.065
54	chr6	108978508	rs74650648	C	C	Nähe 5'UTR	0.031	0.011
55	chr6	108978657	rs12198276	C	A	Nähe 5'UTR	0.135	0.130
56	chr6	108978679	rs78406269	G	A	Nähe 5'UTR	0.021	0.011
57	chr6	108978726	rs149317310	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.033

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
58	chr6	108979982	rs72940656	T	C	Nähe 5'UTR	0.094	0.033
59	chr6	108980223	rs117065796	C	T	Nähe 5'UTR	0.073	0.000
60	chr6	108980390	snv_chr6_108980390	C	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
61	chr6	108980454	rs12174776	G	A	Nähe 5'UTR	0.094	0.000
62	chr6	108980849	rs79737955	A	T	Nähe 5'UTR	0.052	0.065
63	chr6	108980860	snv_chr6_108980860	G	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
64	chr6	108980923	snv_chr6_108980923	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
65	chr6	108981044	rs9400238	G	A	Nähe 5'UTR	0.135	0.098
66	chr6	108981258	rs9386734	A	G	Nähe 5'UTR	0.083	0.076
67	chr6	108981521	rs17069635	C	G	Nähe 5'UTR	0.135	0.098
68	chr6	108981928	rs113700100	T	C	Nähe 5'UTR	0.042	0.065
69	chr6	108982338	rs9372187	G	T	Nähe 5'UTR	0.135	0.098
70	chr6	108982619	snv_chr6_108982619	G	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
71	chr6	108982695	rs768023	G	A	Nähe 5'UTR	0.406	0.337
72	chr6	108982792	rs9486901	T	G	Nähe 5'UTR	0.000	0.033
73	chr6	108982801	rs768024	G	A	Nähe 5'UTR	0.125	0.109
74	chr6	108984672	rs55797977	A	G	Nähe 5'UTR	0.073	0.033
75	chr6	108984745	rs9486902	C	T	Nähe 5'UTR	0.271	0.337
76	chr6	108984969	rs190935332	T	C	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
77	chr6	108985236	rs140136924	T	G	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
78	chr6	108985506	rs7746906	G	A	Nähe 5'UTR	0.125	0.130
79	chr6	108985848	snv_chr6_108985848	C	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
80	chr6	108986021	snv_chr6_108986021	G	G	Nähe 5'UTR	0.021	0.130
81	chr6	108986029	snv_chr6_108986029	C	G	Nähe 5'UTR	0.021	0.000
82	chr6	108986312	snv_chr6_108986312	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
83	chr6	108986522	rs145562362	C	A	Nähe 5'UTR	0.021	0.011
84	chr6	108986847	rs74447671	C	T	Nähe 5'UTR	0.052	0.054
85	chr6	108987180	rs72940666	C	T	Nähe 5'UTR	0.094	0.033
86	chr6	108987189	rs73763140	A	G	Nähe 5'UTR	0.010	0.011
87	chr6	108987339	rs76185277	C	A	Nähe 5'UTR	0.010	0.022
88	chr6	108987380	snv_chr6_108987380	C	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
89	chr6	108987615	rs147824753	A	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.043
90	chr6	108988295	snv_chr6_108988295	C	T	Nähe 5'UTR	0.010	0.000
91	chr6	108988547	rs192590091	G	A	Nähe 5'UTR	0.000	0.011
92	chr6	108989002	snv_chr6_108989002	G	C	5'UTR	0.010	0.000
93	chr6	108989263	rs11757217	C	C	Exon	0.281	0.261
94	chr6	108989523	rs111556510	C	C	Exon	0.031	0.076
95	chr6	108989826	rs9374037	A	T	Intron	0.073	0.000
96	chr6	108990011	snv_chr6_108990011	T	G	Intron	0.021	0.000
97	chr6	108990085	snv_chr6_108990085	T	C	Intron	0.000	0.011
98	chr6	108990379	rs58775446	C	A	Intron	0.094	0.033
99	chr6	108990392	snv_chr6_108990392	A	T	Intron	0.010	0.000
100	chr6	108990539	rs111505354	G	A	Intron	0.042	0.043
101	chr6	108990852	rs9386735	C	T	Intron	0.063	0.000
102	chr6	108991102	rs9384680	T	G	Intron	0.083	0.022
103	chr6	108991428	rs9372188	C	T	Intron	0.094	0.033
104	chr6	108991574	rs146538717	C	T	Intron	0.010	0.011
105	chr6	108991584	rs9372189	C	T	Intron	0.083	0.000
106	chr6	108991740	rs190251658	G	A	Intron	0.000	0.022
107	chr6	108992316	rs1536057	C	T	Intron	0.458	0.500
108	chr6	108992979	snv_chr6_108992979	A	G	Intron	0.000	0.011
109	chr6	108993283	rs117621587	T	C	Intron	0.021	0.000
110	chr6	108993452	rs111254195	G	A	Intron	0.052	0.065
111	chr6	108993699	snv_chr6_108993699	A	C	Intron	0.000	0.011
112	chr6	108993997	rs146904213	G	T	Intron	0.010	0.011
113	chr6	108994059	rs74998990	C	T	Intron	0.052	0.022
114	chr6	108994251	rs72940674	C	T	Intron	0.094	0.022
115	chr6	108995005	snv_chr6_108995005	A	G	Intron	0.000	0.011
116	chr6	108995028	snv_chr6_108995028	C	T	Intron	0.010	0.000
117	chr6	108995063	rs77349106	T	C	Intron	0.010	0.000
118	chr6	108995223	rs17532174	G	T	Intron	0.052	0.065
119	chr6	108995286	rs2253310	C	G	Intron	0.417	0.348

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF+ LLI	MAF+ Kontrollen
120	chr6	108995561	rs113032762	T	G	Intron	0.031	0.054
121	chr6	108995713	rs113412119	T	C	Intron	0.104	0.098
122	chr6	108995757	rs112704843	A	G	Intron	0.042	0.065
123	chr6	108996275	rs118045038	G	T	Intron	0.021	0.000
124	chr6	108996324	rs35214426	T	C	Intron	0.125	0.098
125	chr6	108996515	rs9372190	T	G	Intron	0.135	0.098
126	chr6	108996660	rs149934676	C	G	Intron	0.000	0.033
127	chr6	108996762	rs9384681	A	G	Intron	0.083	0.033
128	chr6	108997632	snv_chr6_108997632	T	C	Intron	0.000	0.011
129	chr6	108998928	rs12055603	A	G	Intron	0.094	0.000
130	chr6	108999592	rs182178995	A	G	Intron	0.021	0.011
131	chr6	108999598	snv_chr6_108999598	C	G	Intron	0.010	0.000
132	chr6	109000358	snv_chr6_109000358	C	A	Intron	0.021	0.000
133	chr6	109000405	rs72940678	C	G	Intron	0.073	0.000
134	chr6	109000875	rs146090493	T	C	Intron	0.010	0.011
135	chr6	109000909	rs1536058	G	A	Intron	0.021	0.033
136	chr6	109001108	snv_chr6_109001108	A	G	Intron	0.010	0.000
137	chr6	109001131	rs2764265	C	T	Intron	0.396	0.304
138	chr6	109001738	snv_chr6_109001738	G	A	Intron	0.010	0.000
139	chr6	109001775	rs112799621	C	T	Intron	0.000	0.022
140	chr6	109001860	rs187933331	C	T	Intron	0.010	0.000
141	chr6	109001931	rs6899495	C	T	Intron	0.323	0.337
142	chr6	109002079	rs2490272	C	C	Intron	0.198	0.043
143	chr6	109002485	rs57099886	G	A	Intron	0.094	0.033
144	chr6	109002908	rs2802288	A	G	Intron	0.406	0.337
145	chr6	109002921	rs149884491	A	G	Intron	0.021	0.011
146	chr6	109003022	rs112430040	G	T	Intron	0.052	0.065
147	chr6	109004079	rs2883881	A	G	Intron	0.094	0.087
148	chr6	109004354	rs12200646	G	A	Intron	0.135	0.152
149	chr6	109005720	snv_chr6_109005720	A	C	Intron	0.000	0.011
150	chr6	109005947	snv_chr6_109005947	T	C	Intron	0.010	0.000
151	chr6	109006528	rs9384683	T	G	Intron	0.135	0.087
152	chr6	109007113	snv_chr6_109007113	C	T	Intron	0.000	0.011
153	chr6	109007397	snv_chr6_109007397	A	G	Intron	0.000	0.011
154	chr6	109007574	rs112926169	G	C	Intron	0.000	0.033
155	chr6	109007829	rs145119895	G	A	Intron	0.000	0.033
156	chr6	109007982	snv_chr6_109007982	A	G	Intron	0.010	0.000
157	chr6	109008339	rs188456969	C	T	Intron	0.010	0.000
158	chr6	109008705	snv_chr6_109008705	G	T	Intron	0.010	0.000
159	chr6	109008783	rs148966320	T	G	Intron	0.010	0.011
160	chr6	109008832	rs7747393	C	T	Intron	0.333	0.359
161	chr6	109008852	snv_chr6_109008852	G	C	Intron	0.010	0.000
162	chr6	109008873	rs10499051	A	G	Intron	0.125	0.098
163	chr6	109010078	rs17598170	C	G	Intron	0.052	0.054
164	chr6	109010080	rs72940688	A	G	Intron	0.010	0.011
165	chr6	109011188	snv_chr6_109011188	G	C	Intron	0.000	0.011
166	chr6	109012373	rs2802290	G	A	Intron	0.427	0.348
167	chr6	109012618	rs2802291	T	A	Intron	0.969	1.000
168	chr6	109012706	rs117867552	A	G	Intron	0.021	0.000
169	chr6	109012893	rs12206094	C	T	Intron	0.438	0.522
170	chr6	109013063	rs113397272	G	A	Intron	0.000	0.054
171	chr6	109013182	snv_chr6_109013182	A	A	Intron	0.021	0.022
172	chr6	109013191	snv_chr6_109013191	G	A	Intron	0.000	0.011
173	chr6	109013405	rs17532496	A	G	Intron	0.052	0.065
174	chr6	109013438	rs188458437	G	A	Intron	0.000	0.011
175	chr6	109014913	rs75270290	C	T	Intron	0.010	0.000
176	chr6	109015211	rs2802292	G	T	Intron	0.396	0.337
177	chr6	109016043	snv_chr6_109016043	C	T	Intron	0.010	0.000
178	chr6	109017228	rs79919617	C	T	Intron	0.000	0.033
179	chr6	109017764	rs17532552	A	C	Intron	0.052	0.065
180	chr6	109017868	snv_chr6_109017868	C	T	Intron	0.000	0.011
181	chr6	109018666	rs72940694	A	G	Intron	0.073	0.033

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF+ LLI	MAF+ Kontrollen
182	chr6	109018713	rs79375388	C	G	Intron	0.000	0.033
183	chr6	109019381	rs72940696	C	G	Intron	0.042	0.033
184	chr6	109019894	rs13220810	T	C	Intron	0.125	0.174
185	chr6	109020149	snv_chr6_109020149	C	T	Intron	0.010	0.000
186	chr6	109020366	snv_chr6_109020366	C	T	Intron	0.010	0.000
187	chr6	109021751	rs182233668	T	G	Intron	0.000	0.033
188	chr6	109022749	snv_chr6_109022749	A	G	Intron	0.010	0.000
189	chr6	109022838	rs141613172	G	A	Intron	0.000	0.033
190	chr6	109022840	rs145364506	T	G	Intron	0.000	0.033
191	chr6	109023072	rs17532573	G	A	Intron	0.031	0.043
192	chr6	109023266	rs9480865	T	C	Intron	0.344	0.391
193	chr6	109023762	rs9386740	G	A	Intron	0.094	0.000
194	chr6	109024381	rs17069647	T	A	Intron	0.104	0.098
195	chr6	109024476	rs17532643	G	A	Intron	0.052	0.065
196	chr6	109024947	rs142033783	G	A	Intron	0.000	0.033
197	chr6	109026211	rs142252424	T	C	Intron	0.010	0.011
198	chr6	109026339	rs55758249	A	G	Intron	0.083	0.000
199	chr6	109026436	rs72940700	A	G	Intron	0.010	0.011
200	chr6	109026663	rs9386741	A	G	Intron	0.073	0.000
201	chr6	109026836	snv_chr6_109026836	A	G	Intron	0.010	0.000
202	chr6	109027850	rs58157973	A	G	Intron	0.135	0.152
203	chr6	109028206	snv_chr6_109028206	C	T	Intron	0.010	0.000
204	chr6	109029025	rs12196602	T	A	Intron	0.094	0.130
205	chr6	109029118	rs113418303	C	T	Intron	0.052	0.065
206	chr6	109029161	rs149778389	G	A	Intron	0.000	0.033
207	chr6	109029319	rs9386742	C	T	Intron	0.094	0.000
208	chr6	109030218	rs9372191	T	C	Intron	0.063	0.000
209	chr6	109030429	snv_chr6_109030429	A	G	Intron	0.000	0.011
210	chr6	109031360	rs151173262	G	A	Intron	0.010	0.011
211	chr6	109031482	rs7775621	A	G	Intron	0.083	0.033
212	chr6	109032649	rs72942509	G	A	Intron	0.063	0.000
213	chr6	109033189	rs2802295	A	G	Intron	0.406	0.359
214	chr6	109033950	rs193212990	C	T	Intron	0.000	0.011
215	chr6	109034361	rs139516206	A	G	Intron	0.021	0.000
216	chr6	109034534	rs7753734	C	T	Intron	0.333	0.391
217	chr6	109034535	rs2764261	A	G	Intron	0.406	0.359
218	chr6	109034864	rs7754626	G	A	Intron	0.333	0.359
219	chr6	109034935	rs112928189	T	A	Intron	0.042	0.065
220	chr6	109035073	rs72942514	C	T	Intron	0.063	0.000
221	chr6	109035368	rs61541825	G	A	Intron	0.021	0.043
222	chr6	109035490	snv_chr6_109035490	C	T	Intron	0.000	0.011
223	chr6	109035851	rs114859320	A	G	Intron	0.010	0.011
224	chr6	109037149	snv_chr6_109037149	C	G	Intron	0.000	0.011
225	chr6	109037230	rs191966809	T	C	Intron	0.010	0.000
226	chr6	109037403	rs114566335	C	T	Intron	0.010	0.000
227	chr6	109038034	snv_chr6_109038034	T	C	Intron	0.010	0.000
228	chr6	109038697	rs17532874	T	C	Intron	0.063	0.065
229	chr6	109038853	rs2764263	C	T	Intron	1.000	0.957
230	chr6	109039047	rs78971984	G	A	Intron	0.010	0.000
231	chr6	109039216	snv_chr6_109039216	A	G	Intron	0.000	0.011
232	chr6	109040350	rs12192569	C	A	Intron	0.104	0.130
233	chr6	109040501	rs12192758	G	A	Intron	0.094	0.130
234	chr6	109040549	rs184402979	C	T	Intron	0.000	0.033
235	chr6	109041151	snv_chr6_109041151	T	C	Intron	0.000	0.011
236	chr6	109041154	rs2764264	C	T	Intron	0.490	0.446
237	chr6	109041591	rs57610840	C	T	Intron	0.000	0.033
238	chr6	109041658	rs72942519	C	A	Intron	0.115	0.152
239	chr6	109041757	rs142210520	G	A	Intron	0.021	0.011
240	chr6	109042367	snv_chr6_109042367	C	G	Intron	0.000	0.011
241	chr6	109042608	rs4317448	G	T	Intron	0.333	0.391
242	chr6	109042724	snv_chr6_109042724	C	T	Intron	0.010	0.000
243	chr6	109043093	rs191736681	C	T	Intron	0.010	0.000

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF+ LLI	MAF+ Kontrollen
244	chr6	109043516	rs12211662	A	T	Intron	0.021	0.043
245	chr6	109043893	rs117331555	T	C	Intron	0.010	0.000
246	chr6	109044185	snv_chr6_109044185	C	T	Intron	0.010	0.000
247	chr6	109044217	rs144232400	C	T	Intron	0.000	0.022
248	chr6	109044450	rs145452660	C	A	Intron	0.010	0.011
249	chr6	109044654	rs111871611	A	G	Intron	0.021	0.000
250	chr6	109045005	rs115719875	G	A	Intron	0.010	0.011
251	chr6	109045776	rs12202234	C	G	Intron	0.115	0.141
252	chr6	109046437	rs80349352	C	G	Intron	0.000	0.033
253	chr6	109046564	rs116446427	A	C	Intron	0.010	0.011
254	chr6	109046604	rs182554812	T	C	Intron	0.000	0.011
255	chr6	109046693	snv_chr6_109046693	C	A	Intron	0.010	0.000
256	chr6	109046973	rs7341233	T	C	Intron	0.125	0.163
257	chr6	109047231	snv_chr6_109047231	C	G	Intron	0.000	0.011
258	chr6	109047506	snv_chr6_109047506	C	G	Intron	0.000	0.011
259	chr6	109047824	rs113090615	A	G	Intron	0.021	0.000
260	chr6	109048086	rs17598747	A	G	Intron	0.115	0.130
261	chr6	109048161	rs17069665	A	G	Intron	0.125	0.163
262	chr6	109049365	snv_chr6_109049365	T	C	Intron	0.000	0.011
263	chr6	109049382	rs149868219	G	A	Intron	0.000	0.022
264	chr6	109049835	snv_chr6_109049835	G	A	Intron	0.000	0.011
265	chr6	109050629	rs141317296	C	T	Intron	0.000	0.033
266	chr6	109050858	rs3813498	C	T	Intron	0.490	0.359
267	chr6	109051800	rs7762395	G	A	Intron	0.323	0.380
268	chr6	109052063	rs2022464	A	C	Intron	0.479	0.402
269	chr6	109052419	snv_chr6_109052419	G	A	Intron	0.000	0.011
270	chr6	109052588	snv_chr6_109052588	T	T	Intron	0.146	0.087
271	chr6	109052622	rs143716012	T	G	Intron	0.000	0.033
272	chr6	109053733	rs150925035	A	G	Intron	0.000	0.033
273	chr6	109054409	rs117625482	A	G	Intron	0.021	0.022
274	chr6	109054465	rs111304324	C	T	Intron	0.021	0.000
275	chr6	109054837	rs190215139	A	G	Intron	0.000	0.011
276	chr6	109055034	rs1935957	T	A	Intron	0.885	0.870
277	chr6	109055795	rs72942587	G	A	Intron	0.063	0.000
278	chr6	109055970	rs62428909	G	A	Intron	0.073	0.076
279	chr6	109056094	rs117054112	G	A	Intron	0.010	0.011
280	chr6	109056373	rs111287986	T	C	Intron	0.021	0.000
281	chr6	109056538	rs17069673	A	G	Intron	0.021	0.033
282	chr6	109056762	snv_chr6_109056762	G	C	Intron	0.010	0.000
283	chr6	109056836	rs146174021	A	G	Intron	0.000	0.033
284	chr6	109057159	rs184393355	A	G	Intron	0.010	0.000
285	chr6	109057535	rs112513200	C	T	Intron	0.021	0.000
286	chr6	109058348	rs9285397	T	C	Intron	0.313	0.402
287	chr6	109058569	rs72942591	C	G	Intron	0.052	0.000
288	chr6	109058651	rs190273963	T	G	Intron	0.010	0.000
289	chr6	109058661	rs12213895	T	A	Intron	0.104	0.141
290	chr6	109058662	rs182541933	A	T	Intron	0.010	0.000
291	chr6	109059030	rs4946930	G	A	Intron	0.271	0.293
292	chr6	109060668	rs13207511	A	G	Intron	0.125	0.163
293	chr6	109061412	rs60993310	G	A	Intron	0.021	0.000
294	chr6	109061892	rs74838691	C	A	Intron	0.031	0.043
295	chr6	109062076	rs57882046	G	A	Intron	0.021	0.033
296	chr6	109062231	snv_chr6_109062231	G	A	Intron	0.000	0.011
297	chr6	109062554	rs73763154	T	C	Intron	0.104	0.130
298	chr6	109063138	snv_chr6_109063138	C	T	Intron	0.010	0.000
299	chr6	109063139	rs113696917	G	C	Intron	0.000	0.033
300	chr6	109063176	rs191417422	G	T	Intron	0.010	0.000
301	chr6	109063197	rs1935956	A	T	Intron	0.865	0.967
302	chr6	109063726	rs118096655	A	G	Intron	0.021	0.022
303	chr6	109064125	rs72942595	G	A	Intron	0.115	0.130
304	chr6	109064223	rs17310529	T	C	Intron	0.115	0.130
305	chr6	109064432	snv_chr6_109064432	T	C	Intron	0.010	0.000

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF+ LLI	MAF+ Kontrollen
306	chr6	109064626	rs145514005	C	A	Intron	0.000	0.033
307	chr6	109065096	rs140413776	G	A	Intron	0.010	0.011
308	chr6	109065172	rs192818506	A	G	Intron	0.000	0.033
309	chr6	109065956	snv_chr6_109065956	G	T	Intron	0.000	0.011
310	chr6	109066603	rs80171029	T	G	Intron	0.021	0.033
311	chr6	109066718	rs12202209	T	G	Intron	0.094	0.130
312	chr6	109066914	rs141604528	T	A	Intron	0.000	0.033
313	chr6	109067533	rs9486913	C	G	Intron	0.333	0.370
314	chr6	109067550	rs77437731	T	C	Intron	0.021	0.033
315	chr6	109067710	rs140850974	G	A	Intron	0.010	0.000
316	chr6	109067801	rs76435652	A	G	Intron	0.000	0.033
317	chr6	109067864	rs111282620	A	C	Intron	0.021	0.000
318	chr6	109067996	rs58451520	C	T	Intron	0.042	0.000
319	chr6	109068219	rs79505422	C	T	Intron	0.000	0.033
320	chr6	109068967	snv_chr6_109068967	G	A	Intron	0.000	0.011
321	chr6	109069085	rs140867209	C	T	Intron	0.010	0.000
322	chr6	109069335	rs9480866	C	T	Intron	0.313	0.370
323	chr6	109069788	rs145350520	G	A	Intron	0.000	0.022
324	chr6	109070138	rs1935955	T	C	Intron	0.021	0.033
325	chr6	109071578	rs12207868	A	G	Intron	0.052	0.120
326	chr6	109071732	rs10457180	G	A	Intron	0.490	0.435
327	chr6	109072039	rs192236667	G	A	Intron	0.010	0.000
328	chr6	109072102	snv_chr6_109072102	G	T	Intron	0.010	0.000
329	chr6	109072515	rs113440943	T	C	Intron	0.010	0.000
330	chr6	109072806	rs1935953	C	T	Intron	0.000	0.033
331	chr6	109073090	snv_chr6_109072102	A	T	Intron	0.010	0.000
332	chr6	109073105	rs139288406	C	A	Intron	0.000	0.033
333	chr6	109074539	rs6938053	T	C	Intron	0.979	0.957
334	chr6	109074884	rs74939639	C	A	Intron	0.000	0.033
335	chr6	109075124	rs77565097	T	G	Intron	0.000	0.033
336	chr6	109075186	rs79189627	A	G	Intron	0.000	0.011
337	chr6	109075370	rs12202049	G	C	Intron	0.115	0.130
338	chr6	109075492	rs72944303	A	C	Intron	0.063	0.000
339	chr6	109075533	snv_chr6_109075533	A	G	Intron	0.010	0.000
340	chr6	109076028	rs72944305	C	T	Intron	0.052	0.000
341	chr6	109076279	rs7744829	T	C	Intron	0.000	0.033
342	chr6	109076964	snv_chr6_109076964	C	T	Intron	0.000	0.011
343	chr6	109077077	rs148120666	G	T	Intron	0.000	0.033
344	chr6	109077078	snv_chr6_109077078	G	A	Intron	0.021	0.000
345	chr6	109077373	rs12209092	A	G	Intron	0.104	0.141
346	chr6	109077406	rs141883562	C	G	Intron	0.000	0.033
347	chr6	109077753	rs71558326	G	T	Intron	0.135	0.174
348	chr6	109077906	rs117420572	A	G	Intron	0.031	0.033
349	chr6	109078227	rs185161602	C	T	Intron	0.010	0.011
350	chr6	109078349	rs12197634	G	C	Intron	0.073	0.141
351	chr6	109078677	snv_chr6_109078677	T	C	Intron	0.010	0.000
352	chr6	109078708	snv_chr6_109078708	T	A	Intron	0.000	0.011
353	chr6	109079395	rs72944310	C	T	Intron	0.063	0.000
354	chr6	109079418	rs146921315	G	A	Intron	0.000	0.033
355	chr6	109080143	snv_chr6_109080143	G	T	Intron	0.010	0.000
356	chr6	109080285	rs149602708	A	G	Intron	0.000	0.033
357	chr6	109080574	rs144292169	T	C	Intron	0.000	0.033
358	chr6	109080595	rs72944313	C	T	Intron	0.063	0.000
359	chr6	109080791	rs13217795	C	T	Intron	0.500	0.446
360	chr6	109081146	rs11153120	C	A	Intron	0.094	0.141
361	chr6	109081271	rs12154031	C	G	Intron	0.115	0.120
362	chr6	109081439	rs4946932	A	C	Intron	0.448	0.413
363	chr6	109081570	rs10484255	T	C	Intron	0.000	0.033
364	chr6	109081962	snv_chr6_109081962	C	T	Intron	0.010	0.000
365	chr6	109082053	rs181973343	A	C	Intron	0.021	0.011
366	chr6	109082157	rs12203787	C	G	Intron	0.125	0.185
367	chr6	109082255	rs12203834	C	T	Intron	0.125	0.174

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF+ LLI	MAF+ Kontrollen
368	chr6	109082339	rs9480867	G	A	Intron	0.323	0.359
369	chr6	109083531	rs143820678	C	T	Intron	0.010	0.000
370	chr6	109083800	rs7772662	A	G	Intron	0.115	0.109
371	chr6	109084356	rs9400239	T	C	Intron	0.490	0.413
372	chr6	109085476	snv_chr6_109085476	G	A	Intron	0.010	0.000
373	chr6	109085919	rs145661810	C	T	Intron	0.010	0.011
374	chr6	109086307	rs149549781	A	C	Intron	0.010	0.011
375	chr6	109086588	rs57990675	A	G	Intron	0.000	0.033
376	chr6	109086639	rs56826508	T	A	Intron	0.000	0.033
377	chr6	109086809	rs59629924	T	T	Intron	0.000	0.043
378	chr6	109087060	snv_chr6_109087060	C	T	Intron	0.010	0.000
379	chr6	109087159	snv_chr6_109087159	C	G	Intron	0.010	0.000
380	chr6	109087305	rs80326875	G	A	Intron	0.010	0.000
381	chr6	109087810	rs4946933	A	G	Intron	0.917	0.978
382	chr6	109087889	rs12212067	T	G	Intron	0.115	0.163
383	chr6	109088031	rs56924132	G	C	Intron	0.000	0.033
384	chr6	109088286	rs145128384	C	T	Intron	0.000	0.033
385	chr6	109088460	rs140637552	C	A	Intron	0.010	0.000
386	chr6	109088824	snv_chr6_109088824	C	A	Intron	0.000	0.011
387	chr6	109088933	rs141846603	G	A	Intron	0.000	0.033
388	chr6	109088975	rs11153121	C	T	Intron	0.083	0.109
389	chr6	109089074	rs62428929	G	A	Intron	0.000	0.011
390	chr6	109089855	rs139659751	T	C	Intron	0.021	0.022
391	chr6	109090152	rs112670969	G	A	Intron	0.021	0.000
392	chr6	109090220	rs9398171	C	T	Intron	0.500	0.435
393	chr6	109090280	rs142076680	C	T	Intron	0.000	0.033
394	chr6	109090352	rs183030381	A	G	Intron	0.000	0.011
395	chr6	109090419	snv_chr6_109090419	G	C	Intron	0.000	0.011
396	chr6	109090675	rs140031880	G	A	Intron	0.000	0.033
397	chr6	109090760	rs12196996	A	G	Intron	0.083	0.098
398	chr6	109091173	rs111345966	C	T	Intron	0.010	0.000
399	chr6	109091192	rs140668066	G	A	Intron	0.000	0.033
400	chr6	109091476	rs61756661	G	A	Exon	0.000	0.011
401	chr6	109093004	snv_chr6_109093004	A	G	Intron	0.000	0.011
402	chr6	109093299	rs3778586	G	A	Intron	0.115	0.152
403	chr6	109093456	rs150556958	C	T	Intron	0.000	0.033
404	chr6	109093672	snv_chr6_109093672	T	C	Intron	0.010	0.000
405	chr6	109093872	rs76680083	A	G	Intron	0.000	0.011
406	chr6	109094086	rs190924256	A	C	Intron	0.000	0.011
407	chr6	109094312	rs182812510	A	G	Intron	0.010	0.011
408	chr6	109094345	rs139741999	C	T	Intron	0.000	0.033
409	chr6	109094630	snv_chr6_109094630	T	G	Intron	0.000	0.011
410	chr6	109094877	rs2153960	G	A	Intron	0.438	0.337
411	chr6	109094878	rs151085382	C	G	Intron	0.000	0.022
412	chr6	109095288	rs3800226	T	C	Intron	0.063	0.109
413	chr6	109095951	snv_chr6_109096742	A	G	Intron	0.000	0.011
414	chr6	109096742	rs147028903	A	G	Intron	0.000	0.033
415	chr6	109096900	rs191550813	C	T	Intron	0.063	0.065
416	chr6	109096934	rs184421133	A	G	Intron	0.000	0.033
417	chr6	109097030	rs143154445	C	A	Intron	0.000	0.033
418	chr6	109097498	rs141234681	C	T	Intron	0.000	0.011
419	chr6	109097552	rs150748330	T	C	Intron	0.000	0.033
420	chr6	109097683	rs62428930	T	A	Intron	0.052	0.033
421	chr6	109098048	rs150059023	T	C	Intron	0.000	0.033
422	chr6	109098304	rs142382024	C	A	Intron	0.000	0.033
423	chr6	109098379	rs73763159	G	T	Intron	0.094	0.109
424	chr6	109098499	rs4945815	T	C	Intron	0.979	0.978
425	chr6	109098781	rs141627417	G	A	Intron	0.000	0.033
426	chr6	109099504	rs7763137	A	G	Intron	1.000	0.957
427	chr6	109099673	rs150168336	G	A	Intron	0.000	0.033
428	chr6	109099827	snv_chr6_109099827	A	G	Intron	0.000	0.011
429	chr6	109100854	rs3800227	A	G	Intron	0.552	0.467

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF+ LLI	MAF+ Kontrollen
430	chr6	109101126	rs35396874	C	T	Intron	0.510	0.489
431	chr6	109101519	rs9398172	G	A	Intron	0.490	0.467
432	chr6	109101562	rs113065605	G	A	Intron	0.021	0.000
433	chr6	109101653	rs113320141	G	A	Intron	0.021	0.000
434	chr6	109101880	rs61192764	A	G	Intron	0.135	0.109
435	chr6	109102667	rs112265856	C	T	Intron	0.021	0.000
436	chr6	109103108	rs144675737	G	T	Intron	0.010	0.011
437	chr6	109103246	rs3778588	T	C	Intron	0.625	0.598
438	chr6	109103270	rs77479069	G	A	Intron	0.010	0.022
439	chr6	109103340	rs72944329	A	G	Intron	0.063	0.000
440	chr6	109103441	rs3800228	T	G	Intron	0.500	0.467
441	chr6	109103445	rs143434007	A	G	Intron	0.010	0.000
442	chr6	109103479	snv_chr6_109103479	T	G	Intron	0.000	0.011
443	chr6	109103588	snv_chr6_109103588	C	T	Intron	0.000	0.011
444	chr6	109103656	rs3800229	G	T	Intron	0.490	0.446
445	chr6	109104128	rs9374040	G	A	Intron	0.510	0.467
446	chr6	109104304	rs9400240	G	A	Intron	0.479	0.478
447	chr6	109104344	rs147522869	C	T	Intron	0.010	0.011
448	chr6	109104821	rs3800230	T	G	Intron	0.104	0.109
449	chr6	109104959	rs3800231	A	G	Intron	0.240	0.109
450	chr6	109105133	rs111601159	G	A	Intron	0.021	0.000
451	chr6	109105302	snv_chr6_109105302	A	G	Intron	0.000	0.011
452	chr6	109105483	snv_chr6_109105483	C	A	Intron	0.010	0.000
453	chr6	109105598	rs1935952	G	C	Intron	0.500	0.478
454	chr6	109105646	rs3800232	C	T	Intron	0.135	0.098
455	chr6	109105711	rs144147110	G	A	Intron	0.021	0.000
456	chr6	109105794	rs1935951	G	A	Intron	0.469	0.457
457	chr6	109105893	rs183392060	T	G	Intron	0.010	0.000
458	chr6	109105980	rs1935949	A	G	Intron	0.490	0.489
459	chr6	109106125	snv_chr6_109106125	A	G	Intron	0.000	0.011
460	chr6	109106786	rs13208954	T	C	Intron	0.010	0.054
461	chr6	109106792	snv_chr6_109106792	C	C	Intron	0.021	0.022
462	chr6	109106793	rs200902068	G	A	Intron	0.010	0.065
463	chr6	109106809	snv_chr6_109106809	T	C	Intron	0.010	0.022
464	chr6	109106828	snv_chr6_109106828	T	C	Intron	0.010	0.000
465	chr6	109106853	rs111326678	T	C	Intron	0.021	0.000
466	chr6	109106892	snv_chr6_109106892	C	T	Intron	0.010	0.000
467	chr6	109106923	snv_chr6_109106923	G	A	Intron	0.000	0.011
468	chr6	109106969	rs9320265	A	G	Intron	0.583	0.554
469	chr6	109106991	snv_chr6_109106991	T	A	Intron	0.000	0.011
470	chr6	109107009	rs9398173	T	C	Intron	0.323	0.337
471	chr6	109107024	rs9320266	T	C	Intron	0.875	0.957
472	chr6	109107093	rs185046619	G	A	Intron	0.010	0.000
473	chr6	109107338	rs148333222	C	T	Intron	0.000	0.033
474	chr6	109107435	rs4946935	A	G	Intron	0.510	0.489
475	chr6	109108735	rs4945816	C	T	3'UTR	0.500	0.424
476	chr6	109109253	snv_chr6_109109253	G	A	3'UTR	0.000	0.011
477	chr6	109109689	rs181539642	C	T	3'UTR	0.021	0.000
478	chr6	109110014	rs4946936	T	C	3'UTR	0.510	0.467
479	chr6	109110439	snv_chr6_109110439	T	C	3'UTR	0.000	0.011
480	chr6	109110682	rs9400241	C	A	3'UTR	0.500	0.467
481	chr6	109110853	snv_chr6_109110853	G	A	3'UTR	0.000	0.011
482	chr6	109111278	snv_chr6_109111278	A	G	3'UTR	0.010	0.000
483	chr6	109111393	snv_chr6_109111393	A	A	3'UTR	0.021	0.000
484	chr6	109111468	snv_chr6_109111468	G	G	3'UTR	0.021	0.022
485	chr6	109111471	snv_chr6_109111471	A	A	3'UTR	0.021	0.000
486	chr6	109111474	snv_chr6_109111474	C	C	3'UTR	0.042	0.000
487	chr6	109111475	snv_chr6_109111475	T	T	3'UTR	0.021	0.000
488	chr6	109111481	snv_chr6_109111481	C	C	3'UTR	0.021	0.000
489	chr6	109111520	snv_chr6_109111520	C	C	3'UTR	0.021	0.000
490	chr6	109111718	snv_chr6_109111718	T	A	3'UTR	0.021	0.000
491	chr6	109112281	rs111727905	A	G	3'UTR	0.458	0.457

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
492	chr6	109112607	rs140445546	G	A	3'UTR	0.000	0.033
493	chr6	109112947	snv_chr6_109112947	A	T	Nähe 3'UTR	0.000	0.011
494	chr6	109113140	rs79471415	G	A	Nähe 3'UTR	0.021	0.011
495	chr6	109113325	snv_chr6_109113325	A	G	Nähe 3'UTR	0.000	0.011
496	chr6	109113531	rs1159806	A	T	Nähe 3'UTR	0.521	0.554
497	chr6	109113997	rs1268171	C	G	Nähe 3'UTR	0.479	0.543
498	chr6	109114215	rs1268170	A	G	Nähe 3'UTR	0.521	0.598
499	chr6	109114670	rs1268169	T	G	Nähe 3'UTR	0.521	0.587
500	chr6	109114709	rs150396330	T	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.033
501	chr6	109114851	rs1268168	G	G	Nähe 3'UTR	0.104	0.054
502	chr6	109114876	rs1268167	G	A	Nähe 3'UTR	0.219	0.207
503	chr6	109114925	rs1268166	T	C	Nähe 3'UTR	0.354	0.402
504	chr6	109115071	rs1268165	T	C	Nähe 3'UTR	0.510	0.587
505	chr6	109115109	rs1268164	A	G	Nähe 3'UTR	0.521	0.598
506	chr6	109115597	snv_chr6_109115597	A	G	Nähe 3'UTR	0.021	0.000
507	chr6	109115691	rs1268163	C	T	Nähe 3'UTR	0.521	0.543
508	chr6	109115887	rs1268162	A	G	Nähe 3'UTR	0.490	0.620
509	chr6	109116249	snv_chr6_109116249	G	A	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
510	chr6	109116339	rs1935958	C	T	Nähe 3'UTR	0.313	0.380
511	chr6	109116679	snv_chr6_109116679	A	G	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
512	chr6	109118020	rs761779	G	G	Nähe 3'UTR	0.302	0.185
513	chr6	109118081	rs730167	G	C	Nähe 3'UTR	0.313	0.348
514	chr6	109118526	rs1268161	G	A	Nähe 3'UTR	0.323	0.370
515	chr6	109119128	rs141848994	A	G	Nähe 3'UTR	0.010	0.022
516	chr6	109119153	rs6937254	G	A	Nähe 3'UTR	0.052	0.000
517	chr6	109119403	snv_chr6_109119403	A	G	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
518	chr6	109120357	rs2207731	A	G	Nähe 3'UTR	0.500	0.576
519	chr6	109120377	rs148613944	C	T	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
520	chr6	109120431	snv_chr6_109120431	G	A	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
521	chr6	109120623	rs9486916	C	T	Nähe 3'UTR	0.396	0.380
522	chr6	109120736	rs62428933	G	A	Nähe 3'UTR	0.042	0.000
523	chr6	109120786	snv_chr6_109120786	G	A	Nähe 3'UTR	0.021	0.000
524	chr6	109120911	rs72944364	C	T	Nähe 3'UTR	0.063	0.000
525	chr6	109121247	rs112885748	G	A	Nähe 3'UTR	0.021	0.000
526	chr6	109121916	rs1268180	C	G	Nähe 3'UTR	0.438	0.511
527	chr6	109122929	rs62428934	C	T	Nähe 3'UTR	0.042	0.022
528	chr6	109122979	snv_chr6_109122979	T	C	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
529	chr6	109123037	rs150011076	C	T	Nähe 3'UTR	0.042	0.011
530	chr6	109123149	rs74707718	T	C	Nähe 3'UTR	0.021	0.022
531	chr6	109123556	rs113839792	T	G	Nähe 3'UTR	0.021	0.000
532	chr6	109123609	rs114203554	T	A	Nähe 3'UTR	0.010	0.011
533	chr6	109123714	snv_chr6_109123714	A	G	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
534	chr6	109123731	rs9486917	C	T	Nähe 3'UTR	0.115	0.174
535	chr6	109123782	rs77705066	C	T	Nähe 3'UTR	0.021	0.011
536	chr6	109123930	rs1268179	G	C	Nähe 3'UTR	0.479	0.554
537	chr6	109123977	rs1268178	T	G	Nähe 3'UTR	0.510	0.533
538	chr6	109124015	rs1268177	A	G	Nähe 3'UTR	0.458	0.489
539	chr6	109124420	snv_chr6_109124420	C	T	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
540	chr6	109124634	rs743052	G	T	Nähe 3'UTR	0.063	0.000
541	chr6	109124739	rs1268176	G	A	Nähe 3'UTR	0.479	0.565
542	chr6	109124992	snv_chr6_109124992	A	G	Nähe 3'UTR	0.104	0.283
543	chr6	109124993	snv_chr6_109124993	A	G	Nähe 3'UTR	0.063	0.174
544	chr6	109125015	rs76745579	A	A	Nähe 3'UTR	0.375	0.239
545	chr6	109125498	rs184011319	C	T	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
546	chr6	109125552	rs1268174	A	A	Nähe 3'UTR	0.344	0.207
547	chr6	109125965	snv_chr6_109125965	T	C	Nähe 3'UTR	0.000	0.011
548	chr6	109126016	rs473268	C	A	Nähe 3'UTR	0.479	0.478
549	chr6	109126105	rs72944374	C	T	Nähe 3'UTR	0.052	0.000
550	chr6	109126299	rs531111	T	C	Nähe 3'UTR	0.333	0.391
551	chr6	109126381	snv_chr6_109126381	G	A	Nähe 3'UTR	0.010	0.000
552	chr6	109126414	rs532093	G	A	Nähe 3'UTR	0.365	0.370
553	chr6	109126725	rs479744	G	T	Nähe 3'UTR	0.396	0.413

Nr.	Chr	Position (hg18)	SNV	refBase	varBase	Lokalisation	MAF* LLI	MAF* Kontrollen
554	chr6	109127025	rs557544	T	C	Nähe 3'UTR	0.438	0.467
555	chr6	109127327	rs4946938	T	C	Nähe 3'UTR	0.135	0.098
556	chr6	109127416	rs561204	G	C	Nähe 3'UTR	0.021	0.011
557	chr6	109127499	snv_chr6_109127499	G	A	Nähe 3'UTR	0.010	0.000

* Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

Tabelle 8-8: SNVs in der FOXO3A-Genregion, die aus der Assoziationsanalyse ausgeschlossen wurden. Gelistet sind SNV-ID, SNV-Lokalisation sowie Status der beobachteten Genotypen. Für die unbekanntenen SNVs ohne rs-ID sind die jeweiligen Positionen angegeben (Genome Reference Consortium Human genome build 36).

Nr.	SNV	Lokalisation	Genotypisierungsergebnisse*
1	rs9374035	Nähe 5'UTR	failed
2	rs6918436	Nähe 5'UTR	failed
3	rs12198276	Nähe 5'UTR	failed
4	rs9400238	Nähe 5'UTR	failed
5	rs768024	Nähe 5'UTR	failed
6	rs55797977	Nähe 5'UTR	failed
7	rs57791839	Nähe 5'UTR	monomorph
8	rs11969027	Nähe 5'UTR	monomorph
9	rs11752388	Nähe 5'UTR	monomorph
10	rs76185277	Nähe 5'UTR	monomorph
11	rs113490969	Nähe 5'UTR	monomorph
12	rs191550813	Intron	monomorph
13	rs9372188	Intron	failed
14	rs9372189	Intron	failed
15	rs113412119	Intron	failed
16	rs200902068	Intron	failed
17	rs9320265	Intron	failed
18	rs9398173	Intron	failed
19	snv_chr6_109000978	Intron	failed
20	rs2764265	Intron	failed
21	rs6899495	Intron	failed
22	rs57099886	Intron	failed
23	snv_chr6_109008141	Intron	failed
24	rs72940694	Intron	failed
25	rs9386741	Intron	failed
26	snv_chr6_109028311	Intron	failed
27	rs2802295	Intron	failed
28	rs72942514	Intron	failed
29	snv_chr6_109040469	Intron	failed
30	snv_chr6_109044093	Intron	failed
31	snv_chr6_109050159	Intron	failed
32	rs9480866	Intron	failed
33	rs11153121	Intron	failed
34	rs73519961	Intron	monomorph
35	rs114568615	Intron	monomorph
36	snv_chr6_109093659	Intron	failed
37	rs144468305	Intron	monomorph
38	snv_chr6_109094271	Intron	failed
39	snv_chr6_109094322	Intron	failed
40	snv_chr6_109094389	Intron	failed
41	rs191550813	Intron	failed
42	snv_chr6_109096977	Intron	failed
43	rs115145527	Intron	monomorph
44	rs13208954	Intron	failed
45	rs9320266	Intron	monomorph

Nr.	SNV	Lokalisation	Genotypisierungsergebnisse
46	snv_chr6_109107168	Intron	failed
47	rs1268171	Nähe 3'UTR	failed
48	rs6937254	Nähe 3'UTR	failed

* Failed bedeutet, dass die Genotypisierung fehlgeschlagen ist und dadurch keine auswertbaren Ergebnisse generiert werden konnten.

Tabelle 8-9: Assoziationsanalyse und statistische Tests für 205 SNVs in der *FOXO3A*-Genregion (594 LLI \geq 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs2274776	GENO	121/283/155	229/430/245	2,675	2	0,262500
rs2274776	TREND	525/593	888/920	1,256	1	0,262400
rs2274776	ALLELIC	525/593	888/920	1,286	1	0,256800
rs2274776	DOM	404/155	659/245	0,068	1	0,794000
rs2274776	REC	121/438	229/675	2,579	1	0,108300
rs1571631	GENO	119/285/161	202/445/260	0,371	2	0,830900
rs1571631	TREND	523/607	849/965	0,075	1	0,783900
rs1571631	ALLELIC	523/607	849/965	0,076	1	0,783500
rs1571631	DOM	404/161	647/260	0,005	1	0,943900
rs1571631	REC	119/446	202/705	0,299	1	0,584800
rs9480861	GENO	93/239/168	131/375/299	2,152	2	0,341000
rs9480861	TREND	425/575	637/973	2,147	1	0,142800
rs9480861	ALLELIC	425/575	637/973	2,202	1	0,137900
rs9480861	DOM	332/168	506/299	1,685	1	0,194300
rs9480861	REC	93/407	131/674	1,174	1	0,278500
rs17531803	GENO	1/40/454	0/67/738	NA	NA	NA
rs17531803	TREND	42/948	67/1543	0,010	1	0,919400
rs17531803	ALLELIC	42/948	67/1543	0,010	1	0,920400
rs17531803	DOM	41/454	67/738	NA	NA	NA
rs17531803	REC	1/494	0/805	NA	NA	NA
rs1575676	GENO	90/248/164	126/361/315	5,860	2	0,053390
rs1575676	TREND	428/576	613/991	4,884	1	0,027100
rs1575676	ALLELIC	428/576	613/991	5,013	1	0,025160
rs1575676	DOM	338/164	487/315	5,800	1	0,016020
rs1575676	REC	90/412	126/676	1,099	1	0,294600
rs9384677	GENO	1/35/470	1/56/753	NA	NA	NA
rs9384677	TREND	37/975	58/1562	0,010	1	0,919400
rs9384677	ALLELIC	37/975	58/1562	0,010	1	0,919100
rs9384677	DOM	36/470	57/753	NA	NA	NA
rs9384677	REC	1/505	1/809	NA	NA	NA
rs9384678	GENO	1/35/471	1/56/754	NA	NA	NA
rs9384678	TREND	37/977	58/1564	0,010	1	0,922200
rs9384678	ALLELIC	37/977	58/1564	0,010	1	0,922000
rs9384678	DOM	36/471	57/754	NA	NA	NA
rs9384678	REC	1/506	1/810	NA	NA	NA
rs9384679	GENO	91/257/162	126/371/312	6,355	2	0,041690
rs9384679	TREND	439/581	623/995	5,295	1	0,021380
rs9384679	ALLELIC	439/581	623/995	5,349	1	0,020730
rs9384679	DOM	348/162	497/312	6,285	1	0,012170
rs9384679	REC	91/419	126/683	1,171	1	0,279200
rs79420173	GENO	3/40/451	2/95/731	NA	NA	NA
rs79420173	TREND	46/942	99/1557	2,057	1	0,151500
rs79420173	ALLELIC	46/942	99/1557	2,088	1	0,148500
rs79420173	DOM	43/451	97/731	NA	NA	NA
rs79420173	REC	3/491	2/826	NA	NA	NA
rs6927268	GENO	29/179/303	33/294/483	1,858	2	0,395000
rs6927268	TREND	237/785	360/1260	0,344	1	0,557800
rs6927268	ALLELIC	237/785	360/1260	0,335	1	0,562500

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs6927268	DOM	208/303	327/483	0,015	1	0,904100
rs6927268	REC	29/482	33/777	1,796	1	0,180200
rs6911407	GENO	103/286/173	146/414/345	8,194	2	0,016620
rs6911407	TREND	492/632	706/1104	6,441	1	0,011150
rs6911407	ALLELIC	492/632	706/1104	6,521	1	0,010660
rs6911407	DOM	389/173	560/345	8,174	1	0,004249
rs6911407	REC	103/459	146/759	1,185	1	0,276300
rs72940651	GENO	7/76/426	4/147/657	NA	NA	NA
rs72940651	TREND	90/928	155/1461	0,419	1	0,517600
rs72940651	ALLELIC	90/928	155/1461	0,417	1	0,518300
rs72940651	DOM	83/426	151/657	NA	NA	NA
rs72940651	REC	7/502	4/804	NA	NA	NA
rs6930527	GENO	6/90/439	5/145/669	1,191	2	0,551400
rs6930527	TREND	102/968	155/1483	0,004	1	0,951300
rs6930527	ALLELIC	102/968	155/1483	0,004	1	0,951600
rs6930527	DOM	96/439	150/669	0,030	1	0,862500
rs6930527	REC	6/529	5/814	1,049	1	0,305800
rs77626104	GENO	2/45/462	2/84/722	NA	NA	NA
rs77626104	TREND	49/969	88/1528	0,503	1	0,478200
rs77626104	ALLELIC	49/969	88/1528	0,506	1	0,476800
rs77626104	DOM	47/462	86/722	NA	NA	NA
rs77626104	REC	2/507	2/806	NA	NA	NA
rs113700100	GENO	0/45/462	0/85/722	NA	NA	NA
rs113700100	TREND	45/969	85/1529	0,959	1	0,327400
rs113700100	ALLELIC	45/969	85/1529	0,909	1	0,340300
rs113700100	DOM	45/462	85/722	NA	NA	NA
rs113700100	REC	0/507	0/807	NA	NA	NA
rs9372187	GENO	4/66/367	4/95/554	NA	NA	NA
rs9372187	TREND	74/800	103/1203	0,234	1	0,628700
rs9372187	ALLELIC	74/800	103/1203	0,236	1	0,626900
rs9372187	DOM	70/367	99/554	NA	NA	NA
rs9372187	REC	4/433	4/649	NA	NA	NA
rs768023	GENO	102/287/171	147/414/346	8,791	2	0,012340
rs768023	TREND	491/629	708/1106	6,554	1	0,010460
rs768023	ALLELIC	491/629	708/1106	6,628	1	0,010040
rs768023	DOM	389/171	561/346	8,790	1	0,003028
rs768023	REC	102/458	147/760	0,990	1	0,319800
rs9486902	GENO	17/155/314	20/195/559	8,170	2	0,016820
rs9486902	TREND	189/783	235/1313	7,698	1	0,005529
rs9486902	ALLELIC	189/783	235/1313	7,756	1	0,005354
rs9486902	DOM	172/314	215/559	8,131	1	0,004351
rs9486902	REC	17/469	20/754	0,875	1	0,349600
rs7746906	GENO	11/146/422	14/202/701	2,445	2	0,294500
rs7746906	TREND	168/990	230/1604	2,402	1	0,121200
rs7746906	ALLELIC	168/990	230/1604	2,381	1	0,122800
rs7746906	DOM	157/422	216/701	2,404	1	0,121000
rs7746906	REC	11/568	14/903	0,301	1	0,583500
snv_chr6_108986029	GENO	0/16/564	0/31/867	NA	NA	NA
snv_chr6_108986029	TREND	16/1144	31/1765	0,551	1	0,458100
snv_chr6_108986029	ALLELIC	16/1144	31/1765	0,542	1	0,461800
snv_chr6_108986029	DOM	16/564	31/867	NA	NA	NA
snv_chr6_108986029	REC	0/580	0/898	NA	NA	NA
rs145562362	GENO	0/45/532	0/63/813	NA	NA	NA
rs145562362	TREND	45/1109	63/1689	0,186	1	0,665900
rs145562362	ALLELIC	45/1109	63/1689	0,179	1	0,672100
rs145562362	DOM	45/532	63/813	NA	NA	NA
rs145562362	REC	0/577	0/876	NA	NA	NA
snv_chr6_108986635	GENO	0/1/577	0/2/910	NA	NA	NA
snv_chr6_108986635	TREND	1/1155	2/1822	0,038	1	0,846000

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
snv_chr6_108986635	ALLELIC	1/1155	2/1822	0,038	1	0,846100
snv_chr6_108986635	DOM	1/577	2/910	NA	NA	NA
snv_chr6_108986635	REC	0/578	0/912	NA	NA	NA
rs74447671	GENO	2/43/462	2/84/723	NA	NA	NA
rs74447671	TREND	47/967	88/1530	0,821	1	0,365000
rs74447671	ALLELIC	47/967	88/1530	0,828	1	0,363000
rs74447671	DOM	45/462	86/723	NA	NA	NA
rs74447671	REC	2/505	2/807	NA	NA	NA
snv_chr6_108987041	GENO	0/0/579	0/2/910	NA	NA	NA
snv_chr6_108987041	TREND	0/1158	2/1822	1,271	1	0,259500
snv_chr6_108987041	ALLELIC	0/1158	2/1822	1,271	1	0,259700
snv_chr6_108987041	DOM	0/579	2/910	NA	NA	NA
snv_chr6_108987041	REC	0/579	0/912	NA	NA	NA
rs72940666	GENO	1/52/524	3/66/843	NA	NA	NA
rs72940666	TREND	54/1100	72/1752	0,915	1	0,338900
rs72940666	ALLELIC	54/1100	72/1752	0,935	1	0,333600
rs72940666	DOM	53/524	69/843	NA	NA	NA
rs72940666	REC	1/576	3/909	NA	NA	NA
rs192590091	GENO	1/23/555	1/33/881	NA	NA	NA
rs192590091	TREND	25/1133	35/1795	0,209	1	0,647700
rs192590091	ALLELIC	25/1133	35/1795	0,219	1	0,640000
rs192590091	DOM	24/555	34/881	NA	NA	NA
rs192590091	REC	1/578	1/914	NA	NA	NA
snv_chr6_108988580	GENO	0/0/555	0/1/844	NA	NA	NA
snv_chr6_108988580	TREND	0/1110	1/1689	0,657	1	0,417500
snv_chr6_108988580	ALLELIC	0/1110	1/1689	0,657	1	0,417600
snv_chr6_108988580	DOM	0/555	1/844	NA	NA	NA
snv_chr6_108988580	REC	0/555	0/845	NA	NA	NA
rs141079241	GENO	0/8/577	0/16/891	NA	NA	NA
rs141079241	TREND	8/1162	16/1798	0,353	1	0,552200
rs141079241	ALLELIC	8/1162	16/1798	0,350	1	0,553900
rs141079241	DOM	8/577	16/891	NA	NA	NA
rs141079241	REC	0/585	0/907	NA	NA	NA
rs9374037	GENO	1/49/529	3/62/853	NA	NA	NA
rs9374037	TREND	51/1107	68/1768	0,887	1	0,346200
rs9374037	ALLELIC	51/1107	68/1768	0,913	1	0,339400
rs9374037	DOM	50/529	65/853	NA	NA	NA
rs9374037	REC	1/578	3/915	NA	NA	NA
rs58775446	GENO	1/39/468	1/62/745	NA	NA	NA
rs58775446	TREND	41/975	64/1552	0,009	1	0,923600
rs58775446	ALLELIC	41/975	64/1552	0,009	1	0,923700
rs58775446	DOM	40/468	63/745	NA	NA	NA
rs58775446	REC	1/507	1/807	NA	NA	NA
rs9386735	GENO	0/17/459	1/32/757	NA	NA	NA
rs9386735	TREND	17/935	34/1546	0,396	1	0,529200
rs9386735	ALLELIC	17/935	34/1546	0,404	1	0,525200
rs9386735	DOM	17/459	33/757	NA	NA	NA
rs9386735	REC	0/476	1/789	NA	NA	NA
rs9384680	GENO	1/38/458	1/72/741	NA	NA	NA
rs9384680	TREND	40/954	74/1554	0,407	1	0,523600
rs9384680	ALLELIC	40/954	74/1554	0,403	1	0,525400
rs9384680	DOM	39/458	73/741	NA	NA	NA
rs9384680	REC	1/496	1/813	NA	NA	NA
rs1536057	GENO	55/223/244	82/349/470	3,949	2	0,138800
rs1536057	TREND	333/711	513/1289	3,583	1	0,058370
rs1536057	ALLELIC	333/711	513/1289	3,719	1	0,053800
rs1536057	DOM	278/244	431/470	3,885	1	0,048710
rs1536057	REC	55/467	82/819	0,783	1	0,376300
rs11254195	GENO	2/45/461	3/81/722	NA	NA	NA

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs111254195	TREND	49/967	87/1525	0,409	1	0,522300
rs111254195	ALLELIC	49/967	87/1525	0,419	1	0,517600
rs111254195	DOM	47/461	84/722	NA	NA	NA
rs111254195	REC	2/506	3/803	NA	NA	NA
rs74998990	GENO	1/52/384	5/85/563	NA	NA	NA
rs74998990	TREND	54/820	95/1211	0,974	1	0,323600
rs74998990	ALLELIC	54/820	95/1211	0,987	1	0,320500
rs74998990	DOM	53/384	90/563	NA	NA	NA
rs74998990	REC	1/436	5/648	NA	NA	NA
rs72940674	GENO	1/53/525	3/70/842	NA	NA	NA
rs72940674	TREND	55/1103	76/1754	0,591	1	0,441900
rs72940674	ALLELIC	55/1103	76/1754	0,602	1	0,437800
rs72940674	DOM	54/525	73/842	NA	NA	NA
rs72940674	REC	1/578	3/912	NA	NA	NA
rs17532174	GENO	2/40/450	3/88/737	NA	NA	NA
rs17532174	TREND	44/940	94/1562	1,771	1	0,183300
rs17532174	ALLELIC	44/940	94/1562	1,808	1	0,178700
rs17532174	DOM	42/450	91/737	NA	NA	NA
rs17532174	REC	2/490	3/825	NA	NA	NA
rs2253310	GENO	106/300/176	147/419/351	10,090	2	0,006445
rs2253310	TREND	512/652	713/1121	7,635	1	0,005723
rs2253310	ALLELIC	512/652	713/1121	7,693	1	0,005544
rs2253310	DOM	406/176	566/351	10,090	1	0,001494
rs2253310	REC	106/476	147/770	1,209	1	0,271600
rs113032762	GENO	2/38/446	3/63/643	NA	NA	NA
rs113032762	TREND	42/930	69/1349	0,370	1	0,543100
rs113032762	ALLELIC	42/930	69/1349	0,387	1	0,534000
rs113032762	DOM	40/446	66/643	NA	NA	NA
rs113032762	REC	2/484	3/706	NA	NA	NA
rs112704843	GENO	2/37/440	2/81/723	NA	NA	NA
rs112704843	TREND	41/917	85/1527	1,252	1	0,263100
rs112704843	ALLELIC	41/917	85/1527	1,271	1	0,259500
rs112704843	DOM	39/440	83/723	NA	NA	NA
rs112704843	REC	2/477	2/804	NA	NA	NA
rs35214426	GENO	4/66/367	6/93/554	NA	NA	NA
rs35214426	TREND	74/800	105/1201	0,123	1	0,726100
rs35214426	ALLELIC	74/800	105/1201	0,127	1	0,721900
rs35214426	DOM	70/367	99/554	NA	NA	NA
rs35214426	REC	4/433	6/647	NA	NA	NA
rs9372190	GENO	4/66/367	6/93/554	NA	NA	NA
rs9372190	TREND	74/800	105/1201	0,123	1	0,726100
rs9372190	ALLELIC	74/800	105/1201	0,127	1	0,721900
rs9372190	DOM	70/367	99/554	NA	NA	NA
rs9372190	REC	4/433	6/647	NA	NA	NA
rs9384681	GENO	0/45/448	3/60/766	NA	NA	NA
rs9384681	TREND	45/941	66/1592	0,516	1	0,472400
rs9384681	ALLELIC	45/941	66/1592	0,523	1	0,469600
rs9384681	DOM	45/448	63/766	NA	NA	NA
rs9384681	REC	0/493	3/826	NA	NA	NA
rs12055603	GENO	1/32/399	2/30/597	NA	NA	NA
rs12055603	TREND	34/830	34/1224	2,371	1	0,123600
rs12055603	ALLELIC	34/830	34/1224	2,508	1	0,113200
rs12055603	DOM	33/399	32/597	NA	NA	NA
rs12055603	REC	1/431	2/627	NA	NA	NA
rs72940678	GENO	1/35/402	2/36/615	NA	NA	NA
rs72940678	TREND	37/839	40/1266	1,988	1	0,158600
rs72940678	ALLELIC	37/839	40/1266	2,076	1	0,149600
rs72940678	DOM	36/402	38/615	NA	NA	NA
rs72940678	REC	1/437	2/651	NA	NA	NA

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs2490272	GENO	103/300/174	146/418/350	10,290	2	0,005832
rs2490272	TREND	506/648	710/1118	7,323	1	0,006809
rs2490272	ALLELIC	506/648	710/1118	7,344	1	0,006727
rs2490272	DOM	403/174	564/350	10,280	1	0,001348
rs2490272	REC	103/474	146/768	0,896	1	0,343900
rs2802288	GENO	102/282/171	144/406/347	9,280	2	0,009658
rs2802288	TREND	486/624	694/1100	7,262	1	0,007044
rs2802288	ALLELIC	486/624	694/1100	7,392	1	0,006553
rs2802288	DOM	384/171	550/347	9,263	1	0,002339
rs2802288	REC	102/453	144/753	1,317	1	0,251100
rs112430040	GENO	2/31/406	3/53/597	NA	NA	NA
rs112430040	TREND	35/843	59/1247	0,338	1	0,561300
rs112430040	ALLELIC	35/843	59/1247	0,360	1	0,548600
rs112430040	DOM	33/406	56/597	NA	NA	NA
rs112430040	REC	2/437	3/650	NA	NA	NA
rs2883881	GENO	6/88/462	5/146/684	1,575	2	0,455000
rs2883881	TREND	100/1012	156/1514	0,098	1	0,754600
rs2883881	ALLELIC	100/1012	156/1514	0,097	1	0,755400
rs2883881	DOM	94/462	151/684	0,319	1	0,572300
rs2883881	REC	6/550	5/830	0,982	1	0,321800
rs12200646	GENO	10/124/371	14/197/701	2,128	2	0,345100
rs12200646	TREND	144/866	225/1599	2,120	1	0,145300
rs12200646	ALLELIC	144/866	225/1599	2,120	1	0,145400
rs12200646	DOM	134/371	211/701	2,038	1	0,153400
rs12200646	REC	10/495	14/898	0,387	1	0,534000
rs9384683	GENO	4/60/357	4/77/529	NA	NA	NA
rs9384683	TREND	68/774	85/1135	0,863	1	0,352800
rs9384683	ALLELIC	68/774	85/1135	0,892	1	0,345000
rs9384683	DOM	64/357	81/529	NA	NA	NA
rs9384683	REC	4/417	4/606	NA	NA	NA
rs7747393	GENO	18/124/300	20/165/462	1,837	2	0,399000
rs7747393	TREND	160/724	205/1089	1,829	1	0,176300
rs7747393	ALLELIC	160/724	205/1089	1,918	1	0,166100
rs7747393	DOM	142/300	185/462	1,560	1	0,211600
rs7747393	REC	18/424	20/627	0,751	1	0,386200
rs10499051	GENO	6/90/457	4/147/681	NA	NA	NA
rs10499051	TREND	102/1004	155/1509	0,007	1	0,934000
rs10499051	ALLELIC	102/1004	155/1509	0,007	1	0,934500
rs10499051	DOM	96/457	151/681	NA	NA	NA
rs10499051	REC	6/547	4/828	NA	NA	NA
rs17598170	GENO	2/45/462	2/84/723	NA	NA	NA
rs17598170	TREND	49/969	88/1530	0,493	1	0,482700
rs17598170	ALLELIC	49/969	88/1530	0,496	1	0,481200
rs17598170	DOM	47/462	86/723	NA	NA	NA
rs17598170	REC	2/507	2/807	NA	NA	NA
rs2802290	GENO	102/288/171	150/409/342	8,541	2	0,013980
rs2802290	TREND	492/630	709/1093	5,712	1	0,016850
rs2802290	ALLELIC	492/630	709/1093	5,798	1	0,016040
rs2802290	DOM	390/171	559/342	8,485	1	0,003581
rs2802290	REC	102/459	150/751	0,570	1	0,450200
rs12206094	GENO	64/278/247	81/361/469	13,090	2	0,001440
rs12206094	TREND	406/772	523/1299	11,070	1	0,000880
rs12206094	ALLELIC	406/772	523/1299	11,110	1	0,000861
rs12206094	DOM	342/247	442/469	13,070	1	0,000301
rs12206094	REC	64/525	81/830	1,597	1	0,206300
rs17532496	GENO	2/28/405	2/54/597	NA	NA	NA
rs17532496	TREND	32/838	58/1248	0,730	1	0,392800
rs17532496	ALLELIC	32/838	58/1248	0,766	1	0,381300
rs17532496	DOM	30/405	56/597	NA	NA	NA

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs17532496	REC	2/433	2/651	NA	NA	NA
rs2802292	GENO	103/295/176	141/413/348	9,629	2	0,008110
rs2802292	TREND	501/647	695/1109	7,581	1	0,005898
rs2802292	ALLELIC	501/647	695/1109	7,618	1	0,005779
rs2802292	DOM	398/176	554/348	9,607	1	0,001939
rs2802292	REC	103/471	141/761	1,359	1	0,243700
rs17532552	GENO	2/51/528	2/100/816	NA	NA	NA
rs17532552	TREND	55/1107	104/1732	1,232	1	0,266900
rs17532552	ALLELIC	55/1107	104/1732	1,229	1	0,267600
rs17532552	DOM	53/528	102/816	NA	NA	NA
rs17532552	REC	2/579	2/916	NA	NA	NA
rs72940696	GENO	0/56/524	4/66/848	NA	NA	NA
rs72940696	TREND	56/1104	74/1762	1,068	1	0,301400
rs72940696	ALLELIC	56/1104	74/1762	1,088	1	0,296900
rs72940696	DOM	56/524	70/848	NA	NA	NA
rs72940696	REC	0/580	4/914	NA	NA	NA
rs13220810	GENO	25/181/302	73/323/498	5,696	2	0,057960
rs13220810	TREND	231/785	469/1319	4,059	1	0,043950
rs13220810	ALLELIC	231/785	469/1319	4,223	1	0,039890
rs13220810	DOM	206/302	396/498	1,853	1	0,173400
rs13220810	REC	25/483	73/821	5,244	1	0,022020
rs17532573	GENO	2/52/524	3/103/811	NA	NA	NA
rs17532573	TREND	56/1100	109/1725	1,633	1	0,201300
rs17532573	ALLELIC	56/1100	109/1725	1,643	1	0,200000
rs17532573	DOM	54/524	106/811	NA	NA	NA
rs17532573	REC	2/576	3/914	NA	NA	NA
rs9480865	GENO	18/175/375	28/228/651	5,783	2	0,055500
rs9480865	TREND	211/925	284/1530	4,169	1	0,041180
rs9480865	ALLELIC	211/925	284/1530	4,259	1	0,039040
rs9480865	DOM	193/375	256/651	5,461	1	0,019440
rs9480865	REC	18/550	28/879	0,008	1	0,929800
rs9386740	GENO	1/49/530	2/60/848	NA	NA	NA
rs9386740	TREND	51/1109	64/1756	1,458	1	0,227200
rs9386740	ALLELIC	51/1109	64/1756	1,479	1	0,223900
rs9386740	DOM	50/530	62/848	NA	NA	NA
rs9386740	REC	1/579	2/908	NA	NA	NA
rs17069647	GENO	7/97/475	6/168/741	1,812	2	0,404000
rs17069647	TREND	111/1047	180/1650	0,051	1	0,821100
rs17069647	ALLELIC	111/1047	180/1650	0,051	1	0,821900
rs17069647	DOM	104/475	174/741	0,260	1	0,609900
rs17069647	REC	7/572	6/909	1,258	1	0,262000
rs17532643	GENO	2/52/526	3/102/812	NA	NA	NA
rs17532643	TREND	56/1104	108/1726	1,535	1	0,215300
rs17532643	ALLELIC	56/1104	108/1726	1,545	1	0,213800
rs17532643	DOM	54/526	105/812	NA	NA	NA
rs17532643	REC	2/578	3/914	NA	NA	NA
rs55758249	GENO	1/49/530	2/62/852	NA	NA	NA
rs55758249	TREND	51/1109	66/1766	1,177	1	0,278100
rs55758249	ALLELIC	51/1109	66/1766	1,191	1	0,275000
rs55758249	DOM	50/530	64/852	NA	NA	NA
rs55758249	REC	1/579	2/914	NA	NA	NA
rs2802293	GENO	0/0/580	0/1/917	NA	NA	NA
rs2802293	TREND	0/1160	1/1835	0,632	1	0,426500
rs2802293	ALLELIC	0/1160	1/1835	0,632	1	0,426600
rs2802293	DOM	0/580	1/917	NA	NA	NA
rs2802293	REC	0/580	0/918	NA	NA	NA
rs58157973	GENO	10/126/357	13/179/635	3,201	2	0,201800
rs58157973	TREND	146/840	205/1449	3,127	1	0,076990
rs58157973	ALLELIC	146/840	205/1449	3,120	1	0,077320

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs58157973	DOM	136/357	192/635	3,158	1	0,075540
rs58157973	REC	10/483	13/814	0,376	1	0,539800
snv_chr6_109028341	GENO	0/1/583	0/1/915	NA	NA	NA
snv_chr6_109028341	TREND	1/1167	1/1831	0,103	1	0,748100
snv_chr6_109028341	ALLELIC	1/1167	1/1831	0,103	1	0,748100
snv_chr6_109028341	DOM	1/583	1/915	NA	NA	NA
snv_chr6_109028341	REC	0/584	0/916	NA	NA	NA
rs9372191	GENO	1/44/511	2/45/787	NA	NA	NA
rs9372191	TREND	46/1066	49/1619	2,822	1	0,093000
rs9372191	ALLELIC	46/1066	49/1619	2,906	1	0,088230
rs9372191	DOM	45/511	47/787	NA	NA	NA
rs9372191	REC	1/555	2/832	NA	NA	NA
rs7775621	GENO	1/40/468	1/62/747	NA	NA	NA
rs7775621	TREND	42/976	64/1556	0,050	1	0,823300
rs7775621	ALLELIC	42/976	64/1556	0,050	1	0,823600
rs7775621	DOM	41/468	63/747	NA	NA	NA
rs7775621	REC	1/508	1/809	NA	NA	NA
rs72942509	GENO	1/26/529	1/34/800	NA	NA	NA
rs72942509	TREND	28/1084	36/1634	0,375	1	0,540500
rs72942509	ALLELIC	28/1084	36/1634	0,390	1	0,532400
rs72942509	DOM	27/529	35/800	NA	NA	NA
rs72942509	REC	1/555	1/834	NA	NA	NA
rs7753734	GENO	19/170/375	26/236/655	4,025	2	0,133700
rs7753734	TREND	208/920	288/1546	3,689	1	0,054770
rs7753734	ALLELIC	208/920	288/1546	3,751	1	0,052770
rs7753734	DOM	189/375	262/655	4,023	1	0,044890
rs7753734	REC	19/545	26/891	0,337	1	0,561400
rs2764261	GENO	104/291/177	147/398/352	10,490	2	0,005284
rs2764261	TREND	499/645	692/1102	7,184	1	0,007357
rs2764261	ALLELIC	499/645	692/1102	7,378	1	0,006601
rs2764261	DOM	395/177	545/352	10,440	1	0,001235
rs2764261	REC	104/468	147/750	0,793	1	0,373100
rs7754626	GENO	18/184/376	26/236/654	6,805	2	0,033280
rs7754626	TREND	220/936	288/1544	5,484	1	0,019190
rs7754626	ALLELIC	220/936	288/1544	5,505	1	0,018960
rs7754626	DOM	202/376	262/654	6,664	1	0,009837
rs7754626	REC	18/560	26/890	0,094	1	0,758800
rs112928189	GENO	2/31/404	3/52/596	NA	NA	NA
rs112928189	TREND	35/839	58/1244	0,243	1	0,622400
rs112928189	ALLELIC	35/839	58/1244	0,259	1	0,610800
rs112928189	DOM	33/404	55/596	NA	NA	NA
rs112928189	REC	2/435	3/648	NA	NA	NA
rs17532874	GENO	3/42/444	3/94/729	NA	NA	NA
rs17532874	TREND	48/930	100/1552	1,478	1	0,224000
rs17532874	ALLELIC	48/930	100/1552	1,517	1	0,218000
rs17532874	DOM	45/444	97/729	NA	NA	NA
rs17532874	REC	3/486	3/823	NA	NA	NA
rs2764264	GENO	66/280/230	98/364/446	12,570	2	0,001862
rs2764264	TREND	412/740	560/1256	7,655	1	0,005660
rs2764264	ALLELIC	412/740	560/1256	7,769	1	0,005316
rs2764264	DOM	346/230	462/446	12,000	1	0,000533
rs2764264	REC	66/510	98/810	0,159	1	0,690300
rs72942519	GENO	7/107/379	13/164/651	0,709	2	0,701500
rs72942519	TREND	121/865	190/1466	0,375	1	0,540500
rs72942519	ALLELIC	121/865	190/1466	0,379	1	0,538000
rs72942519	DOM	114/379	177/651	0,549	1	0,458700
rs72942519	REC	7/486	13/815	0,047	1	0,828800
rs4317448	GENO	18/194/340	28/225/575	10,020	2	0,006659
rs4317448	TREND	230/874	281/1375	6,599	1	0,010200

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs4317448	ALLELIC	230/874	281/1375	6,558	1	0,010440
rs4317448	DOM	212/340	253/575	9,136	1	0,002507
rs4317448	REC	18/534	28/800	0,015	1	0,902500
snv_chr6_109043940	GENO	0/1/578	0/2/913	NA	NA	NA
snv_chr6_109043940	TREND	1/1157	2/1828	0,037	1	0,847000
snv_chr6_109043940	ALLELIC	1/1157	2/1828	0,037	1	0,847100
snv_chr6_109043940	DOM	1/578	2/913	NA	NA	NA
snv_chr6_109043940	REC	0/579	0/915	NA	NA	NA
rs12202234	GENO	7/113/429	10/160/664	0,435	2	0,804700
rs12202234	TREND	127/971	180/1488	0,403	1	0,525400
rs12202234	ALLELIC	127/971	180/1488	0,403	1	0,525500
rs12202234	DOM	120/429	170/664	0,434	1	0,509900
rs12202234	REC	7/542	10/824	0,016	1	0,900100
snv_chr6_109045936	GENO	0/4/573	0/2/914	NA	NA	NA
snv_chr6_109045936	TREND	4/1150	2/1830	1,995	1	0,157900
snv_chr6_109045936	ALLELIC	4/1150	2/1830	1,991	1	0,158300
snv_chr6_109045936	DOM	4/573	2/914	NA	NA	NA
snv_chr6_109045936	REC	0/577	0/916	NA	NA	NA
rs7341233	GENO	8/117/369	16/174/638	1,394	2	0,498000
rs7341233	TREND	133/855	206/1450	0,569	1	0,450500
rs7341233	ALLELIC	133/855	206/1450	0,578	1	0,447000
rs7341233	DOM	125/369	190/638	0,947	1	0,330500
rs7341233	REC	8/486	16/812	0,170	1	0,680100
rs17598747	GENO	7/93/338	12/113/526	2,603	2	0,272100
rs17598747	TREND	107/769	137/1165	1,437	1	0,230600
rs17598747	ALLELIC	107/769	137/1165	1,508	1	0,219500
rs17598747	DOM	100/338	125/526	2,105	1	0,146900
rs17598747	REC	7/431	12/639	0,092	1	0,761900
rs17069665	GENO	7/120/382	15/169/627	1,702	2	0,427000
rs17069665	TREND	134/884	199/1423	0,451	1	0,502000
rs17069665	ALLELIC	134/884	199/1423	0,454	1	0,500500
rs17069665	DOM	127/382	184/627	0,889	1	0,345700
rs17069665	REC	7/502	15/796	0,429	1	0,512300
snv_chr6_109048572	GENO	67/206/241	92/365/460	3,400	2	0,182700
snv_chr6_109048572	TREND	340/688	549/1285	2,838	1	0,092050
snv_chr6_109048572	ALLELIC	340/688	549/1285	3,032	1	0,081640
snv_chr6_109048572	DOM	273/241	457/460	1,415	1	0,234200
snv_chr6_109048572	REC	67/447	92/825	3,006	1	0,082950
rs3813498	GENO	25/204/350	38/252/626	10,340	2	0,005673
rs3813498	TREND	254/904	328/1504	7,158	1	0,007462
rs3813498	ALLELIC	254/904	328/1504	7,352	1	0,006697
rs3813498	DOM	229/350	290/626	9,748	1	0,001795
rs3813498	REC	25/554	38/878	0,025	1	0,873900
rs7762395	GENO	16/169/377	25/229/651	4,078	2	0,130200
rs7762395	TREND	201/923	279/1531	3,061	1	0,080210
rs7762395	ALLELIC	201/923	279/1531	3,087	1	0,078920
rs7762395	DOM	185/377	254/651	3,892	1	0,048520
rs7762395	REC	16/546	25/880	0,009	1	0,923900
rs2022464	GENO	66/278/237	93/363/458	12,580	2	0,001853
rs2022464	TREND	410/752	549/1279	8,850	1	0,002931
rs2022464	ALLELIC	410/752	549/1279	8,992	1	0,002712
rs2022464	DOM	344/237	456/458	12,400	1	0,000430
rs2022464	REC	66/515	93/821	0,525	1	0,468900
rs1935957	GENO	1/20/418	0/25/628	NA	NA	NA
rs1935957	TREND	22/856	25/1281	0,854	1	0,355500
rs1935957	ALLELIC	22/856	25/1281	0,872	1	0,350300
rs1935957	DOM	21/418	25/628	NA	NA	NA
rs1935957	REC	1/438	0/653	NA	NA	NA
rs72942587	GENO	1/15/477	0/33/759	NA	NA	NA

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs72942587	TREND	17/969	33/1551	0,403	1	0,525800
rs72942587	ALLELIC	17/969	33/1551	0,411	1	0,521500
rs72942587	DOM	16/477	33/759	NA	NA	NA
rs72942587	REC	1/492	0/792	NA	NA	NA
rs62428909	GENO	11/73/355	13/126/512	1,538	2	0,463600
rs62428909	TREND	95/783	152/1150	0,349	1	0,554700
rs62428909	ALLELIC	95/783	152/1150	0,381	1	0,537100
rs62428909	DOM	84/355	139/512	0,792	1	0,373400
rs62428909	REC	11/428	13/638	0,315	1	0,574500
rs17069673	GENO	0/13/568	0/18/900	NA	NA	NA
rs17069673	TREND	13/1149	18/1818	0,135	1	0,713800
rs17069673	ALLELIC	13/1149	18/1818	0,133	1	0,715200
rs17069673	DOM	13/568	18/900	NA	NA	NA
rs17069673	REC	0/581	0/918	NA	NA	NA
rs9285397	GENO	18/191/370	29/232/654	10,270	2	0,005895
rs9285397	TREND	227/931	290/1540	6,918	1	0,008533
rs9285397	ALLELIC	227/931	290/1540	6,992	1	0,008189
rs9285397	DOM	209/370	261/654	9,429	1	0,002135
rs9285397	REC	18/561	29/886	0,004	1	0,947900
rs72942591	GENO	1/20/488	0/37/773	NA	NA	NA
rs72942591	TREND	22/996	37/1583	0,043	1	0,836400
rs72942591	ALLELIC	22/996	37/1583	0,043	1	0,835400
rs72942591	DOM	21/488	37/773	NA	NA	NA
rs72942591	REC	1/508	0/810	NA	NA	NA
rs12213895	GENO	7/104/374	12/159/652	0,858	2	0,651200
rs12213895	TREND	118/852	183/1463	0,649	1	0,420500
rs12213895	ALLELIC	118/852	183/1463	0,657	1	0,417600
rs12213895	DOM	111/374	171/652	0,803	1	0,370300
rs12213895	REC	7/478	12/811	0,000	1	0,982800
rs4946930	GENO	16/182/382	24/227/665	7,982	2	0,018480
rs4946930	TREND	214/946	275/1557	6,137	1	0,013240
rs4946930	ALLELIC	214/946	275/1557	6,138	1	0,013230
rs4946930	DOM	198/382	251/665	7,672	1	0,005609
rs4946930	REC	16/564	24/892	0,026	1	0,871400
rs13207511	GENO	30/158/275	64/287/434	2,432	2	0,296300
rs13207511	TREND	218/708	415/1155	2,430	1	0,119000
rs13207511	ALLELIC	218/708	415/1155	2,572	1	0,108800
rs13207511	DOM	188/275	351/434	2,004	1	0,156900
rs13207511	REC	30/433	64/721	1,171	1	0,279200
rs73763154	GENO	10/106/379	12/163/653	1,272	2	0,529300
rs73763154	TREND	126/864	187/1469	1,193	1	0,274700
rs73763154	ALLELIC	126/864	187/1469	1,223	1	0,268700
rs73763154	DOM	116/379	175/653	0,954	1	0,328600
rs73763154	REC	10/485	12/816	0,618	1	0,432000
snv_chr6_109063069	GENO	0/1/583	0/0/913	NA	NA	NA
snv_chr6_109063069	TREND	1/1167	0/1826	1,564	1	0,211000
snv_chr6_109063069	ALLELIC	1/1167	0/1826	1,564	1	0,211100
snv_chr6_109063069	DOM	1/583	0/913	NA	NA	NA
snv_chr6_109063069	REC	0/584	0/913	NA	NA	NA
rs1935956	GENO	0/0/557	0/1/834	NA	NA	NA
rs1935956	TREND	0/1114	1/1669	0,668	1	0,413900
rs1935956	ALLELIC	0/1114	1/1669	0,667	1	0,414000
rs1935956	DOM	0/557	1/834	NA	NA	NA
rs1935956	REC	0/557	0/835	NA	NA	NA
rs72942595	GENO	6/94/339	12/113/523	2,944	2	0,229500
rs72942595	TREND	106/772	137/1159	1,142	1	0,285100
rs72942595	ALLELIC	106/772	137/1159	1,189	1	0,275500
rs72942595	DOM	100/339	125/523	1,941	1	0,163600
rs72942595	REC	6/433	12/636	0,378	1	0,538600

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs17310529	GENO	6/115/434	10/158/664	0,658	2	0,719800
rs17310529	TREND	127/983	178/1486	0,379	1	0,538100
rs17310529	ALLELIC	127/983	178/1486	0,377	1	0,539200
rs17310529	DOM	121/434	168/664	0,523	1	0,469600
rs17310529	REC	6/549	10/822	0,043	1	0,836400
rs12202209	GENO	7/107/381	12/165/651	0,541	2	0,763000
rs12202209	TREND	121/869	189/1467	0,390	1	0,532400
rs12202209	ALLELIC	121/869	189/1467	0,392	1	0,531100
rs12202209	DOM	114/381	177/651	0,494	1	0,482300
rs12202209	REC	7/488	12/816	0,003	1	0,958500
rs9486913	GENO	17/189/375	27/230/659	9,813	2	0,007397
rs9486913	TREND	223/939	284/1548	6,844	1	0,008896
rs9486913	ALLELIC	223/939	284/1548	6,878	1	0,008725
rs9486913	DOM	206/375	257/659	9,111	1	0,002540
rs9486913	REC	17/564	27/889	0,001	1	0,980800
rs12207868	GENO	7/92/337	12/116/522	1,829	2	0,400600
rs12207868	TREND	106/766	140/1160	0,955	1	0,328500
rs12207868	ALLELIC	106/766	140/1160	0,999	1	0,317500
rs12207868	DOM	99/337	128/522	1,434	1	0,231100
rs12207868	REC	7/429	12/638	0,088	1	0,766800
rs10457180	GENO	67/272/238	94/357/455	11,540	2	0,003113
rs10457180	TREND	406/748	545/1267	8,217	1	0,004151
rs10457180	ALLELIC	406/748	545/1267	8,434	1	0,003683
rs10457180	DOM	339/238	451/455	11,400	1	0,000734
rs10457180	REC	67/510	94/812	0,557	1	0,455500
rs12202049	GENO	7/127/447	12/181/725	1,013	2	0,602500
rs12202049	TREND	141/1021	205/1631	0,658	1	0,417200
rs12202049	ALLELIC	141/1021	205/1631	0,654	1	0,418700
rs12202049	DOM	134/447	193/725	0,868	1	0,351500
rs12202049	REC	7/574	12/906	0,030	1	0,863000
rs72944303	GENO	1/17/418	0/21/628	NA	NA	NA
rs72944303	TREND	19/853	21/1277	0,879	1	0,348500
rs72944303	ALLELIC	19/853	21/1277	0,907	1	0,340800
rs72944303	DOM	18/418	21/628	NA	NA	NA
rs72944303	REC	1/435	0/649	NA	NA	NA
rs72944305	GENO	1/17/492	0/32/779	NA	NA	NA
rs72944305	TREND	19/1001	32/1590	0,039	1	0,842800
rs72944305	ALLELIC	19/1001	32/1590	0,040	1	0,841200
rs72944305	DOM	18/492	32/779	NA	NA	NA
rs72944305	REC	1/509	0/811	NA	NA	NA
rs12209092	GENO	7/90/338	12/114/523	1,709	2	0,425500
rs12209092	TREND	104/766	138/1160	0,874	1	0,349900
rs12209092	ALLELIC	104/766	138/1160	0,918	1	0,337900
rs12209092	DOM	97/338	126/523	1,326	1	0,249500
rs12209092	REC	7/428	12/637	0,087	1	0,768100
rs71558326	GENO	30/205/339	74/327/509	4,846	2	0,088660
rs71558326	TREND	265/883	475/1345	3,281	1	0,070090
rs71558326	ALLELIC	265/883	475/1345	3,420	1	0,064420
rs71558326	DOM	235/339	401/509	1,404	1	0,236100
rs71558326	REC	30/544	74/836	4,559	1	0,032740
rs12197634	GENO	7/106/381	13/163/651	0,613	2	0,735900
rs12197634	TREND	120/868	189/1465	0,305	1	0,580600
rs12197634	ALLELIC	120/868	189/1465	0,310	1	0,578000
rs12197634	DOM	113/381	176/651	0,459	1	0,498100
rs12197634	REC	7/487	13/814	0,050	1	0,823400
rs72944310	GENO	0/20/467	0/34/789	NA	NA	NA
rs72944310	TREND	20/954	34/1612	0,000	1	0,982800
rs72944310	ALLELIC	20/954	34/1612	0,000	1	0,983000
rs72944310	DOM	20/467	34/789	NA	NA	NA

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs72944310	REC	0/487	0/823	NA	NA	NA
rs72944313	GENO	0/26/468	0/37/792	NA	NA	NA
rs72944313	TREND	26/962	37/1621	0,437	1	0,508700
rs72944313	ALLELIC	26/962	37/1621	0,426	1	0,513900
rs72944313	DOM	26/468	37/792	NA	NA	NA
rs72944313	REC	0/494	0/829	NA	NA	NA
rs13217795	GENO	63/270/236	90/366/445	8,868	2	0,011870
rs13217795	TREND	396/742	546/1256	6,440	1	0,011160
rs13217795	ALLELIC	396/742	546/1256	6,482	1	0,010900
rs13217795	DOM	333/236	456/445	8,783	1	0,003040
rs13217795	REC	63/506	90/811	0,439	1	0,507700
rs11153120	GENO	8/107/380	13/165/649	0,537	2	0,764500
rs11153120	TREND	123/867	191/1463	0,447	1	0,503800
rs11153120	ALLELIC	123/867	191/1463	0,455	1	0,500200
rs11153120	DOM	115/380	178/649	0,524	1	0,469100
rs11153120	REC	8/487	13/814	0,004	1	0,950400
rs12154031	GENO	6/114/437	10/161/664	0,328	2	0,848900
rs12154031	TREND	126/988	181/1489	0,153	1	0,695700
rs12154031	ALLELIC	126/988	181/1489	0,152	1	0,696700
rs12154031	DOM	120/437	171/664	0,229	1	0,632100
rs12154031	REC	6/551	10/825	0,043	1	0,836400
rs4946932	GENO	68/273/238	92/365/450	10,300	2	0,005813
rs4946932	TREND	409/749	549/1265	8,128	1	0,004359
rs4946932	ALLELIC	409/749	549/1265	8,268	1	0,004035
rs4946932	DOM	341/238	457/450	10,290	1	0,001337
rs4946932	REC	68/511	92/815	0,943	1	0,331500
rs12203787	GENO	8/117/369	16/175/638	1,303	2	0,521400
rs12203787	TREND	133/855	207/1451	0,520	1	0,471000
rs12203787	ALLELIC	133/855	207/1451	0,527	1	0,467800
rs12203787	DOM	125/369	191/638	0,873	1	0,350200
rs12203787	REC	8/486	16/813	0,168	1	0,682200
rs12203834	GENO	8/124/425	14/170/650	0,797	2	0,671200
rs12203834	TREND	140/974	198/1470	0,301	1	0,583300
rs12203834	ALLELIC	140/974	198/1470	0,304	1	0,581500
rs12203834	DOM	132/425	184/650	0,509	1	0,475500
rs12203834	REC	8/549	14/820	0,126	1	0,722600
rs9480867	GENO	17/188/374	26/228/660	10,180	2	0,006154
rs9480867	TREND	222/936	280/1548	7,499	1	0,006173
rs9480867	ALLELIC	222/936	280/1548	7,528	1	0,006075
rs9480867	DOM	205/374	254/660	9,656	1	0,001887
rs9480867	REC	17/562	26/888	0,011	1	0,918000
rs7772662	GENO	7/112/365	14/172/632	0,891	2	0,640500
rs7772662	TREND	126/842	200/1436	0,347	1	0,556100
rs7772662	ALLELIC	126/842	200/1436	0,348	1	0,555300
rs7772662	DOM	119/365	186/632	0,579	1	0,446600
rs7772662	REC	7/477	14/804	0,135	1	0,713500
rs9400239	GENO	62/266/228	90/364/444	9,938	2	0,006951
rs9400239	TREND	390/722	544/1252	7,159	1	0,007458
rs9400239	ALLELIC	390/722	544/1252	7,205	1	0,007272
rs9400239	DOM	328/228	454/444	9,831	1	0,001716
rs9400239	REC	62/494	90/808	0,467	1	0,494200
rs4946933	GENO	1/26/530	0/30/803	NA	NA	NA
rs4946933	TREND	28/1086	30/1636	1,637	1	0,200700
rs4946933	ALLELIC	28/1086	30/1636	1,660	1	0,197600
rs4946933	DOM	27/530	30/803	NA	NA	NA
rs4946933	REC	1/556	0/833	NA	NA	NA
rs12212067	GENO	8/120/428	12/161/659	1,031	2	0,597100
rs12212067	TREND	136/976	185/1479	0,799	1	0,371500
rs12212067	ALLELIC	136/976	185/1479	0,807	1	0,369100

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs12212067	DOM	128/428	173/659	0,974	1	0,323600
rs12212067	REC	8/548	12/820	0,000	1	0,995800
rs9398171	GENO	61/282/237	89/367/460	12,890	2	0,001587
rs9398171	TREND	404/756	545/1287	8,472	1	0,003607
rs9398171	ALLELIC	404/756	545/1287	8,459	1	0,003633
rs9398171	DOM	343/237	456/460	12,490	1	0,000408
rs9398171	REC	61/519	89/827	0,253	1	0,615200
rs12196996	GENO	5/104/442	9/148/675	0,348	2	0,840200
rs12196996	TREND	114/988	166/1498	0,099	1	0,752700
rs12196996	ALLELIC	114/988	166/1498	0,099	1	0,752900
rs12196996	DOM	109/442	157/675	0,178	1	0,673500
rs12196996	REC	5/546	9/823	0,101	1	0,751200
rs61756661	GENO	0/7/587	0/19/898	NA	NA	NA
rs61756661	TREND	7/1181	19/1815	1,702	1	0,192000
rs61756661	ALLELIC	7/1181	19/1815	1,687	1	0,194000
rs61756661	DOM	7/587	19/898	NA	NA	NA
rs61756661	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs145259784	GENO	0/2/592	0/3/915	NA	NA	NA
rs145259784	TREND	2/1186	3/1833	0,001	1	0,973900
rs145259784	ALLELIC	2/1186	3/1833	0,001	1	0,973900
rs145259784	DOM	2/592	3/915	NA	NA	NA
rs145259784	REC	0/594	0/918	NA	NA	NA
rs374860833	GENO	0/0/594	0/2/916	NA	NA	NA
rs374860833	TREND	0/1188	2/1834	1,296	1	0,255000
rs374860833	ALLELIC	0/1188	2/1834	1,295	1	0,255100
rs374860833	DOM	0/594	2/916	NA	NA	NA
rs374860833	REC	0/594	0/918	NA	NA	NA
rs181686373	GENO	0/1/593	0/1/916	NA	NA	NA
rs181686373	TREND	1/1187	1/1833	0,096	1	0,756800
rs181686373	ALLELIC	1/1187	1/1833	0,096	1	0,756900
rs181686373	DOM	1/593	1/916	NA	NA	NA
rs181686373	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109092246	GENO	0/1/593	0/0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109092246	TREND	1/1187	0/1834	1,545	1	0,213900
snv_chr6_109092246	ALLELIC	1/1187	0/1834	1,544	1	0,214000
snv_chr6_109092246	DOM	1/593	0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109092246	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109092372	GENO	0/1/593	0/1/916	NA	NA	NA
snv_chr6_109092372	TREND	1/1187	1/1833	0,096	1	0,756800
snv_chr6_109092372	ALLELIC	1/1187	1/1833	0,096	1	0,756900
snv_chr6_109092372	DOM	1/593	1/916	NA	NA	NA
snv_chr6_109092372	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs113367269	GENO	0/6/588	0/12/905	NA	NA	NA
rs113367269	TREND	6/1182	12/1822	0,273	1	0,601400
rs113367269	ALLELIC	6/1182	12/1822	0,271	1	0,602500
rs113367269	DOM	6/588	12/905	NA	NA	NA
rs113367269	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs3778586	GENO	8/131/443	14/180/718	1,685	2	0,430600
rs3778586	TREND	147/1017	208/1616	1,013	1	0,314100
rs3778586	ALLELIC	147/1017	208/1616	1,019	1	0,312700
rs3778586	DOM	139/443	194/718	1,399	1	0,237000
rs3778586	REC	8/574	14/898	0,063	1	0,801700
snv_chr6_109093637	GENO	0/0/560	0/1/898	NA	NA	NA
snv_chr6_109093637	TREND	0/1120	1/1797	0,623	1	0,429800
snv_chr6_109093637	ALLELIC	0/1120	1/1797	0,623	1	0,429900
snv_chr6_109093637	DOM	0/560	1/898	NA	NA	NA
snv_chr6_109093637	REC	0/560	0/899	NA	NA	NA
rs2153960	GENO	61/283/237	89/368/457	12,510	2	0,001918
rs2153960	TREND	405/757	546/1282	8,170	1	0,004258

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs2153960	ALLELIC	405/757	546/1282	8,139	1	0,004332
rs2153960	DOM	344/237	457/457	12,110	1	0,000502
rs2153960	REC	61/520	89/825	0,228	1	0,632800
rs3800226	GENO	7/118/453	10/171/735	0,759	2	0,684300
rs3800226	TREND	132/1024	191/1641	0,727	1	0,393800
rs3800226	ALLELIC	132/1024	191/1641	0,725	1	0,394600
rs3800226	DOM	125/453	181/735	0,758	1	0,383900
rs3800226	REC	7/571	10/906	0,045	1	0,832200
snv_chr6_109096793	GENO	0/0/583	0/1/914	NA	NA	NA
snv_chr6_109096793	TREND	0/1166	1/1829	0,638	1	0,424600
snv_chr6_109096793	ALLELIC	0/1166	1/1829	0,637	1	0,424700
snv_chr6_109096793	DOM	0/583	1/914	NA	NA	NA
snv_chr6_109096793	REC	0/583	0/915	NA	NA	NA
snv_chr6_109096995	GENO	0/15/520	0/21/836	NA	NA	NA
snv_chr6_109096995	TREND	15/1055	21/1693	0,163	1	0,686200
snv_chr6_109096995	ALLELIC	15/1055	21/1693	0,161	1	0,688200
snv_chr6_109096995	DOM	15/520	21/836	NA	NA	NA
snv_chr6_109096995	REC	0/535	0/857	NA	NA	NA
rs76050897	GENO	0/1/580	0/0/914	NA	NA	NA
rs76050897	TREND	1/1161	0/1828	1,574	1	0,209600
rs76050897	ALLELIC	1/1161	0/1828	1,574	1	0,209700
rs76050897	DOM	1/580	0/914	NA	NA	NA
rs76050897	REC	0/581	0/914	NA	NA	NA
rs62428930	GENO	0/55/526	1/87/827	NA	NA	NA
rs62428930	TREND	55/1107	89/1741	0,027	1	0,868800
rs62428930	ALLELIC	55/1107	89/1741	0,026	1	0,871200
rs62428930	DOM	55/526	88/827	NA	NA	NA
rs62428930	REC	0/581	1/914	NA	NA	NA
rs73763159	GENO	6/118/457	9/168/737	0,873	2	0,646300
rs73763159	TREND	130/1032	186/1642	0,780	1	0,377100
rs73763159	ALLELIC	130/1032	186/1642	0,771	1	0,380000
rs73763159	DOM	124/457	177/737	0,864	1	0,352800
rs73763159	REC	6/575	9/905	0,008	1	0,927600
rs4945815	GENO	0/3/579	0/5/909	NA	NA	NA
rs4945815	TREND	3/1161	5/1823	0,007	1	0,934900
rs4945815	ALLELIC	3/1161	5/1823	0,007	1	0,935000
rs4945815	DOM	3/579	5/909	NA	NA	NA
rs4945815	REC	0/582	0/914	NA	NA	NA
rs3778587	GENO	0/3/579	0/2/914	NA	NA	NA
rs3778587	TREND	3/1161	2/1830	0,944	1	0,331100
rs3778587	ALLELIC	3/1161	2/1830	0,943	1	0,331500
rs3778587	DOM	3/579	2/914	NA	NA	NA
rs3778587	REC	0/582	0/916	NA	NA	NA
rs57012130	GENO	0/1/581	0/0/915	NA	NA	NA
rs57012130	TREND	1/1163	0/1830	1,573	1	0,209700
rs57012130	ALLELIC	1/1163	0/1830	1,573	1	0,209800
rs57012130	DOM	1/581	0/915	NA	NA	NA
rs57012130	REC	0/582	0/915	NA	NA	NA
rs3800227	GENO	49/269/261	72/348/496	12,090	2	0,002372
rs3800227	TREND	367/791	492/1340	8,170	1	0,004259
rs3800227	ALLELIC	367/791	492/1340	8,106	1	0,004411
rs3800227	DOM	318/261	420/496	11,680	1	0,000633
rs3800227	REC	49/530	72/844	0,173	1	0,677300
rs35396874	GENO	60/279/241	86/367/464	11,890	2	0,002614
rs35396874	TREND	399/761	539/1295	8,305	1	0,003954
rs35396874	ALLELIC	399/761	539/1295	8,281	1	0,004006
rs35396874	DOM	339/241	453/464	11,670	1	0,000634
rs35396874	REC	60/520	86/831	0,377	1	0,539200
rs9398172	GENO	62/281/241	86/366/464	12,740	2	0,001714

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs9398172	TREND	405/763	538/1294	9,330	1	0,002255
rs9398172	ALLELIC	405/763	538/1294	9,324	1	0,002262
rs9398172	DOM	343/241	452/464	12,620	1	0,000382
rs9398172	REC	62/522	86/830	0,605	1	0,436900
rs61192764	GENO	10/145/427	14/206/694	1,244	2	0,536900
rs61192764	TREND	165/999	234/1594	1,180	1	0,277300
rs61192764	ALLELIC	165/999	234/1594	1,162	1	0,281000
rs61192764	DOM	155/427	220/694	1,243	1	0,264900
rs61192764	REC	10/572	14/900	0,078	1	0,779600
rs3778588	GENO	17/177/371	26/234/648	5,516	2	0,063420
rs3778588	TREND	211/919	286/1530	4,224	1	0,039870
rs3778588	ALLELIC	211/919	286/1530	4,246	1	0,039350
rs3778588	DOM	194/371	260/648	5,311	1	0,021200
rs3778588	REC	17/548	26/882	0,026	1	0,871900
rs72944329	GENO	1/26/555	0/40/875	NA	NA	NA
rs72944329	TREND	28/1136	40/1790	0,154	1	0,695100
rs72944329	ALLELIC	28/1136	40/1790	0,155	1	0,694100
rs72944329	DOM	27/555	40/875	NA	NA	NA
rs72944329	REC	1/581	0/915	NA	NA	NA
rs3800228	GENO	59/278/242	86/364/464	11,780	2	0,002766
rs3800228	TREND	396/762	536/1292	7,859	1	0,005057
rs3800228	ALLELIC	396/762	536/1292	7,848	1	0,005088
rs3800228	DOM	337/242	450/464	11,440	1	0,000719
rs3800228	REC	59/520	86/828	0,246	1	0,619600
rs3800229	GENO	59/281/241	86/366/466	12,680	2	0,001767
rs3800229	TREND	399/763	538/1298	8,432	1	0,003687
rs3800229	ALLELIC	399/763	538/1298	8,395	1	0,003763
rs3800229	DOM	340/241	452/466	12,300	1	0,000452
rs3800229	REC	59/522	86/832	0,252	1	0,615600
rs9374040	GENO	59/280/241	86/367/464	12,010	2	0,002469
rs9374040	TREND	398/762	539/1295	8,043	1	0,004567
rs9374040	ALLELIC	398/762	539/1295	8,003	1	0,004670
rs9374040	DOM	339/241	453/464	11,670	1	0,000634
rs9374040	REC	59/521	86/831	0,256	1	0,612800
rs9400240	GENO	55/256/233	86/367/465	8,592	2	0,013620
rs9400240	TREND	366/722	539/1297	5,845	1	0,015620
rs9400240	ALLELIC	366/722	539/1297	5,862	1	0,015470
rs9400240	DOM	311/233	453/465	8,378	1	0,003797
rs9400240	REC	55/489	86/832	0,216	1	0,642200
rs3800230	GENO	10/145/428	13/207/695	1,274	2	0,528800
rs3800230	TREND	165/1001	233/1597	1,270	1	0,259800
rs3800230	ALLELIC	165/1001	233/1597	1,244	1	0,264600
rs3800230	DOM	155/428	220/695	1,227	1	0,268000
rs3800230	REC	10/573	13/902	0,204	1	0,651300
rs3800231	GENO	58/268/235	87/362/456	10,360	2	0,005637
rs3800231	TREND	384/738	536/1274	6,826	1	0,008984
rs3800231	ALLELIC	384/738	536/1274	6,840	1	0,008912
rs3800231	DOM	326/235	449/456	10,040	1	0,001536
rs3800231	REC	58/503	87/818	0,205	1	0,651100
rs1935952	GENO	57/269/232	86/359/461	12,430	2	0,001996
rs1935952	TREND	383/733	531/1281	8,079	1	0,004479
rs1935952	ALLELIC	383/733	531/1281	8,088	1	0,004457
rs1935952	DOM	326/232	445/461	12,000	1	0,000533
rs1935952	REC	57/501	86/820	0,205	1	0,651000
rs3800232	GENO	10/145/426	13/206/696	1,469	2	0,479600
rs3800232	TREND	165/997	232/1598	1,459	1	0,227100
rs3800232	ALLELIC	165/997	232/1598	1,431	1	0,231600
rs3800232	DOM	155/426	219/696	1,427	1	0,232300
rs3800232	REC	10/571	13/902	0,212	1	0,645300

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs1935951	GENO	51/231/230	63/304/420	8,945	2	0,011420
rs1935951	TREND	333/691	430/1144	8,031	1	0,004599
rs1935951	ALLELIC	333/691	430/1144	8,089	1	0,004454
rs1935951	DOM	282/230	367/420	8,850	1	0,002931
rs1935951	REC	51/461	63/724	1,482	1	0,223400
rs1935950	GENO	0/0/581	0/2/913	NA	NA	NA
rs1935950	TREND	0/1162	2/1828	1,272	1	0,259500
rs1935950	ALLELIC	0/1162	2/1828	1,271	1	0,259600
rs1935950	DOM	0/581	2/913	NA	NA	NA
rs1935950	REC	0/581	0/915	NA	NA	NA
rs1935949	GENO	58/255/238	83/319/462	14,730	2	0,000632
rs1935949	TREND	371/731	485/1243	9,626	1	0,001919
rs1935949	ALLELIC	371/731	485/1243	9,998	1	0,001567
rs1935949	DOM	313/238	402/462	14,220	1	0,000163
rs1935949	REC	58/493	83/781	0,317	1	0,573200
rs4946935	GENO	57/290/199	85/368/432	21,710	2	0,000019
rs4946935	TREND	404/688	538/1232	13,900	1	0,000193
rs4946935	ALLELIC	404/688	538/1232	13,330	1	0,000262
rs4946935	DOM	347/199	453/432	20,950	1	0,000005
rs4946935	REC	57/489	85/800	0,263	1	0,607800
rs4945816	GENO	60/279/242	83/361/461	12,370	2	0,002056
rs4945816	TREND	399/763	527/1283	9,030	1	0,002656
rs4945816	ALLELIC	399/763	527/1283	8,995	1	0,002708
rs4945816	DOM	339/242	444/461	12,240	1	0,000467
rs4945816	REC	60/521	83/822	0,544	1	0,461000
rs181539642	GENO	0/9/585	0/8/909	NA	NA	NA
rs181539642	TREND	9/1179	8/1826	1,339	1	0,247300
rs181539642	ALLELIC	9/1179	8/1826	1,331	1	0,248600
rs181539642	DOM	9/585	8/909	NA	NA	NA
rs181539642	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs146847197	GENO	0/8/586	0/19/897	NA	NA	NA
rs146847197	TREND	8/1180	19/1813	1,086	1	0,297400
rs146847197	ALLELIC	8/1180	19/1813	1,076	1	0,299600
rs146847197	DOM	8/586	19/897	NA	NA	NA
rs146847197	REC	0/594	0/916	NA	NA	NA
rs4946936	GENO	62/281/243	86/365/462	12,090	2	0,002375
rs4946936	TREND	405/767	537/1289	8,778	1	0,003048
rs4946936	ALLELIC	405/767	537/1289	8,779	1	0,003048
rs4946936	DOM	343/243	451/462	11,960	1	0,000545
rs4946936	REC	62/524	86/827	0,540	1	0,462300
rs9400241	GENO	61/286/247	86/376/454	9,374	2	0,009213
rs9400241	TREND	408/780	548/1284	6,627	1	0,010040
rs9400241	ALLELIC	408/780	548/1284	6,539	1	0,010550
rs9400241	DOM	347/247	462/454	9,228	1	0,002384
rs9400241	REC	61/533	86/830	0,318	1	0,572800
snv_chr6_109110853	GENO	0/11/583	0/12/906	NA	NA	NA
snv_chr6_109110853	TREND	11/1177	12/1824	0,714	1	0,398100
snv_chr6_109110853	ALLELIC	11/1177	12/1824	0,709	1	0,399900
snv_chr6_109110853	DOM	11/583	12/906	NA	NA	NA
snv_chr6_109110853	REC	0/594	0/918	NA	NA	NA
snv_chr6_109110915	GENO	0/1/593	0/1/916	NA	NA	NA
snv_chr6_109110915	TREND	1/1187	1/1833	0,096	1	0,756800
snv_chr6_109110915	ALLELIC	1/1187	1/1833	0,096	1	0,756900
snv_chr6_109110915	DOM	1/593	1/916	NA	NA	NA
snv_chr6_109110915	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs192376282	GENO	0/18/576	0/22/883	NA	NA	NA
rs192376282	TREND	18/1170	22/1788	0,496	1	0,481300
rs192376282	ALLELIC	18/1170	22/1788	0,489	1	0,484200
rs192376282	DOM	18/576	22/883	NA	NA	NA

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs192376282	REC	0/594	0/905	NA	NA	NA
snv_chr6_109111537	GENO	0/1/593	0/0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109111537	TREND	1/1187	0/1834	1,545	1	0,213900
snv_chr6_109111537	ALLELIC	1/1187	0/1834	1,544	1	0,214000
snv_chr6_109111537	DOM	1/593	0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109111537	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
snv_chr6_109111718	GENO	0/11/583	0/9/908	NA	NA	NA
snv_chr6_109111718	TREND	11/1177	9/1825	2,091	1	0,148200
snv_chr6_109111718	ALLELIC	11/1177	9/1825	2,077	1	0,149500
snv_chr6_109111718	DOM	11/583	9/908	NA	NA	NA
snv_chr6_109111718	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs118138902	GENO	0/3/590	0/4/914	NA	NA	NA
rs118138902	TREND	3/1183	4/1832	0,038	1	0,844500
rs118138902	ALLELIC	3/1183	4/1832	0,038	1	0,844700
rs118138902	DOM	3/590	4/914	NA	NA	NA
rs118138902	REC	0/593	0/918	NA	NA	NA
snv_chr6_1091112126	GENO	0/0/594	0/1/916	NA	NA	NA
snv_chr6_1091112126	TREND	0/1188	1/1833	0,648	1	0,420800
snv_chr6_1091112126	ALLELIC	0/1188	1/1833	0,648	1	0,420800
snv_chr6_1091112126	DOM	0/594	1/916	NA	NA	NA
snv_chr6_1091112126	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs111727905	GENO	63/289/242	90/370/445	10,640	2	0,004895
rs111727905	TREND	415/773	550/1260	6,839	1	0,008920
rs111727905	ALLELIC	415/773	550/1260	6,791	1	0,009164
rs111727905	DOM	352/242	460/445	10,270	1	0,001354
rs111727905	REC	63/531	90/815	0,171	1	0,679100
rs140445546	GENO	0/5/589	0/10/907	NA	NA	NA
rs140445546	TREND	5/1183	10/1824	0,227	1	0,633800
rs140445546	ALLELIC	5/1183	10/1824	0,226	1	0,634600
rs140445546	DOM	5/589	10/907	NA	NA	NA
rs140445546	REC	0/594	0/917	NA	NA	NA
rs1268170	GENO	54/173/122	75/283/267	6,299	2	0,042880
rs1268170	TREND	281/417	433/817	6,138	1	0,013230
rs1268170	ALLELIC	281/417	433/817	6,088	1	0,013610
rs1268170	DOM	227/122	358/267	5,626	1	0,017690
rs1268170	REC	54/295	75/550	2,351	1	0,125200
rs1268167	GENO	58/203/178	89/261/302	4,404	2	0,110600
rs1268167	TREND	319/559	439/865	1,550	1	0,213100
rs1268167	ALLELIC	319/559	439/865	1,646	1	0,199500
rs1268167	DOM	261/178	350/302	3,548	1	0,059630
rs1268167	REC	58/381	89/563	0,043	1	0,835200
rs1268165	GENO	72/235/186	103/365/360	4,440	2	0,108600
rs1268165	TREND	379/607	571/1085	4,146	1	0,041730
rs1268165	ALLELIC	379/607	571/1085	4,203	1	0,040350
rs1268165	DOM	307/186	468/360	4,213	1	0,040110
rs1268165	REC	72/421	103/725	1,260	1	0,261600
rs1268164	GENO	58/202/178	89/260/303	4,460	2	0,107500
rs1268164	TREND	318/558	438/866	1,599	1	0,206100
rs1268164	ALLELIC	318/558	438/866	1,702	1	0,192000
rs1268164	DOM	260/178	349/303	3,616	1	0,057240
rs1268164	REC	58/380	89/563	0,037	1	0,846600
rs1268163	GENO	68/227/187	98/358/361	3,869	2	0,144500
rs1268163	TREND	363/601	554/1080	3,684	1	0,054950
rs1268163	ALLELIC	363/601	554/1080	3,735	1	0,053270
rs1268163	DOM	295/187	456/361	3,610	1	0,057430
rs1268163	REC	68/414	98/719	1,214	1	0,270500
rs1268162	GENO	57/200/171	92/256/299	5,575	2	0,061580
rs1268162	TREND	314/542	440/854	1,520	1	0,217700
rs1268162	ALLELIC	314/542	440/854	1,624	1	0,202500

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs1268162	DOM	257/171	348/299	4,103	1	0,042820
rs1268162	REC	57/371	92/555	0,175	1	0,675300
rs761779	GENO	15/140/331	18/205/600	3,730	2	0,154900
rs761779	TREND	170/802	241/1405	3,730	1	0,053450
rs761779	ALLELIC	170/802	241/1405	3,746	1	0,052940
rs761779	DOM	155/331	223/600	3,424	1	0,064270
rs761779	REC	15/471	18/805	1,006	1	0,316000
rs730167	GENO	15/146/331	19/207/603	4,548	2	0,102900
rs730167	TREND	176/808	245/1413	4,445	1	0,035000
rs730167	ALLELIC	176/808	245/1413	4,457	1	0,034760
rs730167	DOM	161/331	226/603	4,447	1	0,034970
rs730167	REC	15/477	19/810	0,705	1	0,401000
rs2207731	GENO	72/233/184	104/356/357	4,749	2	0,093080
rs2207731	TREND	377/601	564/1070	4,223	1	0,039870
rs2207731	ALLELIC	377/601	564/1070	4,315	1	0,037790
rs2207731	DOM	305/184	460/357	4,643	1	0,031180
rs2207731	REC	72/417	104/713	1,044	1	0,307000
rs9486916	GENO	23/169/301	30/233/566	7,177	2	0,027640
rs9486916	TREND	215/771	293/1365	6,669	1	0,009809
rs9486916	ALLELIC	215/771	293/1365	6,806	1	0,009087
rs9486916	DOM	192/301	263/566	7,140	1	0,007538
rs9486916	REC	23/470	30/799	0,880	1	0,348300
rs72944364	GENO	1/25/530	0/30/804	NA	NA	NA
rs72944364	TREND	27/1085	30/1638	1,297	1	0,254700
rs72944364	ALLELIC	27/1085	30/1638	1,316	1	0,251200
rs72944364	DOM	26/530	30/804	NA	NA	NA
rs72944364	REC	1/555	0/834	NA	NA	NA
rs1268180	GENO	55/192/189	84/256/311	2,535	2	0,281500
rs1268180	TREND	302/570	424/878	0,935	1	0,333500
rs1268180	ALLELIC	302/570	424/878	1,004	1	0,316400
rs1268180	DOM	247/189	340/311	2,057	1	0,151500
rs1268180	REC	55/381	84/567	0,019	1	0,889000
rs9486917	GENO	10/98/328	14/152/483	0,145	2	0,929900
rs9486917	TREND	118/754	180/1118	0,048	1	0,826200
rs9486917	ALLELIC	118/754	180/1118	0,050	1	0,823900
rs9486917	DOM	108/328	166/483	0,090	1	0,764200
rs9486917	REC	10/426	14/635	0,022	1	0,880900
rs1268178	GENO	68/255/211	88/377/364	3,124	2	0,209700
rs1268178	TREND	391/677	553/1105	3,119	1	0,077370
rs1268178	ALLELIC	391/677	553/1105	3,044	1	0,081030
rs1268178	DOM	323/211	465/364	2,573	1	0,108700
rs1268178	REC	68/466	88/741	1,439	1	0,230300
rs1268177	GENO	72/230/189	98/365/364	4,630	2	0,098750
rs1268177	TREND	374/608	561/1093	4,612	1	0,031740
rs1268177	ALLELIC	374/608	561/1093	4,676	1	0,030590
rs1268177	DOM	302/189	463/364	3,857	1	0,049540
rs1268177	REC	72/419	98/729	2,171	1	0,140600
rs1268174	GENO	54/198/182	85/261/305	3,361	2	0,186300
rs1268174	TREND	306/562	431/871	1,016	1	0,313400
rs1268174	ALLELIC	306/562	431/871	1,074	1	0,300100
rs1268174	DOM	252/182	346/305	2,543	1	0,110800
rs1268174	REC	54/380	85/566	0,088	1	0,766700
rs473268	GENO	68/275/217	104/408/393	3,143	2	0,207800
rs473268	TREND	411/709	616/1194	2,209	1	0,137200
rs473268	ALLELIC	411/709	616/1194	2,156	1	0,142000
rs473268	DOM	343/217	512/393	3,112	1	0,077720
rs473268	REC	68/492	104/801	0,142	1	0,706700
rs72944374	GENO	1/18/417	0/23/630	NA	NA	NA
rs72944374	TREND	20/852	23/1283	0,746	1	0,387800

SNV	TEST ^a	AFF ^b	UNAFF ^c	CHISQ ^d	DF ^e	P
rs72944374	ALLELIC	20/852	23/1283	0,766	1	0,381400
rs72944374	DOM	19/417	23/630	NA	NA	NA
rs72944374	REC	1/435	0/653	NA	NA	NA
rs531111	GENO	15/181/310	26/227/555	8,574	2	0,013750
rs531111	TREND	211/801	279/1337	5,399	1	0,020150
rs531111	ALLELIC	211/801	279/1337	5,272	1	0,021670
rs531111	DOM	196/310	253/555	7,622	1	0,005765
rs531111	REC	15/491	26/782	0,066	1	0,797100
rs479744	GENO	25/216/324	36/288/583	7,156	2	0,027940
rs479744	TREND	266/864	360/1454	5,806	1	0,015970
rs479744	ALLELIC	266/864	360/1454	5,675	1	0,017200
rs479744	DOM	241/324	324/583	7,075	1	0,007818
rs479744	REC	25/540	36/871	0,182	1	0,669700
rs557544	GENO	58/217/209	88/334/394	3,186	2	0,203300
rs557544	TREND	333/635	510/1122	2,666	1	0,102500
rs557544	ALLELIC	333/635	510/1122	2,753	1	0,097070
rs557544	DOM	275/209	422/394	3,180	1	0,074520
rs557544	REC	58/426	88/728	0,438	1	0,508000
rs4946938	GENO	4/75/429	5/103/703	NA	NA	NA
rs4946938	TREND	83/933	113/1509	1,289	1	0,256200
rs4946938	ALLELIC	83/933	113/1509	1,314	1	0,251800
rs4946938	DOM	79/429	108/703	NA	NA	NA
rs4946938	REC	4/504	5/806	NA	NA	NA
rs519007	GENO	19/167/377	38/271/594	0,707	2	0,702300
rs519007	TREND	205/921	347/1459	0,451	1	0,502000
rs519007	ALLELIC	205/921	347/1459	0,461	1	0,497200
rs519007	DOM	186/377	309/594	0,217	1	0,641600
rs519007	REC	19/544	38/865	0,645	1	0,422100
rs12208908	GENO	39/205/331	48/295/526	1,713	2	0,424600
rs12208908	TREND	283/867	391/1347	1,671	1	0,196200
rs12208908	ALLELIC	283/867	391/1347	1,725	1	0,189100
rs12208908	DOM	244/331	343/526	1,260	1	0,261600
rs12208908	REC	39/536	48/821	0,969	1	0,325000

^a statistischer Test für den jeweiligen SNV; GENO=genotypischer Test; TREND= Cochran-Armitage-Test; ALLELIC= allelischer Test; DOM= dominantes Modell; REC= rezessives Modell

^b Anzahl der SNV-Allele/ Genotypen in der Fallstichprobe

^c Anzahl der SNV-Allele/ Genotypen in der Kontrollstichprobe

^d χ^2 -Test

^e Freiheitsgrad, engl. *degree of freedom*

Tabelle 8-10: Geschlechtsspezifische Assoziationsanalyse für 205 SNVs in der *FOXO3A*-Genregion (594 LLI ≥ 100 Jahre und 918 jüngere Kontrollen zwischen 60-75 Jahren). Für den jeweiligen SNV sind die Frequenzen des seltenen Alleles, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für Männer und Frauen angegeben. Die SNVs sind entsprechend ihrer Position im Genom (Genome Reference Consortium Human genome build 36) aufgeführt.

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
		Frauen n=475	Frauen n=681			
		Männer n=119	Männer n=237			
rs2274776	Frauen	0,470	0,496	0,221	0,900	0,756-1,070
	Männer	0,468	0,476	0,845	0,968	0,702-1,336
rs1571631	Frauen	0,474	0,463	0,622	1,043	0,882-1,235
	Männer	0,419	0,483	0,117	0,773	0,559-1,067
rs9480861	Frauen	0,417	0,400	0,444	1,074	0,895-1,288
	Männer	0,459	0,385	0,080	1,358	0,964-1,915
rs17531803	Frauen	0,040	0,043	0,766	0,934	0,595-1,467
	Männer	0,053	0,038	0,425	1,389	0,618-3,120
rs1575676	Frauen	0,429	0,393	0,108	1,160	0,968-1,391
	Männer	0,414	0,350	0,126	1,311	0,927-1,856
rs9384677	Frauen	0,033	0,036	0,757	0,926	0,567-1,510
	Männer	0,050	0,036	0,398	1,421	0,627-3,222
rs9384678	Frauen	0,033	0,036	0,754	0,925	0,567-1,509
	Männer	0,050	0,036	0,398	1,421	0,627-3,222
rs9384679	Frauen	0,432	0,396	0,108	1,160	0,968-1,389
	Männer	0,426	0,355	0,087	1,348	0,957-1,900
rs79420173	Frauen	0,047	0,060	0,204	0,770	0,513-1,154
	Männer	0,045	0,059	0,481	0,756	0,346-1,651
rs6927268	Frauen	0,233	0,233	0,982	1,002	0,812-1,237
	Männer	0,228	0,193	0,312	1,234	0,820-1,857
rs6911407	Frauen	0,438	0,399	0,063	1,176	0,991-1,395
	Männer	0,437	0,365	0,072	1,349	0,973-1,869
rs72940651	Frauen	0,084	0,097	0,335	0,858	0,628-1,172
	Männer	0,105	0,093	0,633	1,146	0,655-2,005
rs6930527	Frauen	0,091	0,094	0,818	0,965	0,715-1,304
	Männer	0,112	0,095	0,521	1,194	0,694-2,054
rs77626104	Frauen	0,047	0,056	0,349	0,823	0,547-1,238
	Männer	0,054	0,050	0,814	1,094	0,517-2,316
rs113700100	Frauen	0,044	0,056	0,243	0,781	0,516-1,183
	Männer	0,045	0,043	0,922	1,042	0,460-2,362
rs9372187	Frauen	0,081	0,083	0,899	0,977	0,686-1,392
	Männer	0,098	0,066	0,208	1,526	0,788-2,956
rs768023	Frauen	0,440	0,399	0,057	1,181	0,995-1,401
	Männer	0,432	0,364	0,084	1,333	0,962-1,848
rs9486902	Frauen	0,196	0,150	0,007	1,388	1,092-1,764
	Männer	0,186	0,158	0,385	1,222	0,776-1,925
rs7746906	Frauen	0,152	0,132	0,169	1,182	0,931-1,5
	Männer	0,117	0,108	0,698	1,103	0,672-1,811
snv_chr6_108986029	Frauen	0,017	0,018	0,885	0,954	0,504-1,806
	Männer	0,000	0,015	0,061	0,000	NA
rs145562362	Frauen	0,040	0,038	0,843	1,045	0,677-1,612
	Männer	0,035	0,029	0,667	1,217	0,497-2,98
snv_chr6_108986635	Frauen	0,000	0,001	0,242	0,000	NA
	Männer	0,004	0,000	0,152	NA	NA
rs74447671	Frauen	0,044	0,056	0,248	0,783	0,517-1,186
	Männer	0,054	0,050	0,814	1,094	0,517-2,316

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
snv_chr6_108987041	Frauen	0,000	0,001	0,407	0,000	NA
	Männer	0,000	0,002	0,486	0,000	NA
rs72940666	Frauen	0,042	0,039	0,715	1,082	0,709-1,65
	Männer	0,065	0,040	0,152	1,656	0,826-3,322
rs192590091	Frauen	0,023	0,016	0,269	1,404	0,768-2,568
	Männer	0,017	0,027	0,416	0,628	0,202-1,947
snv_chr6_108988580	Frauen	0,000	0,001	0,402	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs141079241	Frauen	0,006	0,008	0,631	0,784	0,289-2,126
	Männer	0,008	0,011	0,784	0,795	0,153-4,128
rs9374037	Frauen	0,039	0,037	0,797	1,059	0,684-1,639
	Männer	0,065	0,038	0,109	1,767	0,874-3,574
rs58775446	Frauen	0,038	0,039	0,896	0,970	0,611-1,54
	Männer	0,050	0,041	0,613	1,229	0,552-2,734
rs9386735	Frauen	0,013	0,022	0,153	0,589	0,282-1,228
	Männer	0,036	0,020	0,221	1,882	0,673-5,269
rs9384680	Frauen	0,039	0,046	0,439	0,838	0,535-1,312
	Männer	0,045	0,043	0,911	1,048	0,462-2,376
rs1536057	Frauen	0,325	0,289	0,079	1,182	0,981-1,426
	Männer	0,297	0,273	0,508	1,129	0,789-1,615
rs111254195	Frauen	0,047	0,056	0,351	0,824	0,548-1,239
	Männer	0,054	0,048	0,723	1,146	0,538-2,44
rs74998990	Frauen	0,067	0,065	0,841	1,041	0,704-1,539
	Männer	0,040	0,096	0,024	0,393	0,170-0,910
rs72940674	Frauen	0,043	0,041	0,765	1,066	0,703-1,615
	Männer	0,065	0,044	0,237	1,505	0,761-2,977
rs17532174	Frauen	0,045	0,059	0,171	0,750	0,495-1,134
	Männer	0,045	0,052	0,741	0,875	0,395-1,936
rs2253310	Frauen	0,442	0,395	0,024	1,214	1,026-1,438
	Männer	0,431	0,371	0,127	1,283	0,932-1,766
rs113032762	Frauen	0,044	0,050	0,507	0,862	0,557-1,336
	Männer	0,041	0,043	0,918	0,954	0,393-2,318
rs112704843	Frauen	0,043	0,053	0,314	0,802	0,522-1,233
	Männer	0,041	0,051	0,591	0,796	0,346-1,831
rs35214426	Frauen	0,081	0,084	0,840	0,964	0,678-1,372
	Männer	0,098	0,069	0,260	1,455	0,755-2,802
rs9372190	Frauen	0,081	0,084	0,840	0,964	0,678-1,372
	Männer	0,098	0,069	0,260	1,455	0,755-2,802
rs9384681	Frauen	0,043	0,040	0,701	1,092	0,698-1,707
	Männer	0,055	0,040	0,394	1,400	0,643-3,048
rs12055603	Frauen	0,036	0,023	0,130	1,563	0,874-2,795
	Männer	0,053	0,038	0,439	1,416	0,584-3,432
rs72940678	Frauen	0,037	0,028	0,282	1,349	0,780-2,332
	Männer	0,063	0,039	0,227	1,656	0,726-3,778
rs2490272	Frauen	0,439	0,394	0,029	1,207	1,019-1,43
	Männer	0,435	0,373	0,118	1,291	0,937-1,778
rs2802288	Frauen	0,438	0,392	0,031	1,208	1,017-1,436
	Männer	0,437	0,372	0,102	1,311	0,948-1,814
rs112430040	Frauen	0,041	0,051	0,333	0,794	0,497-1,268
	Männer	0,034	0,027	0,642	1,282	0,449-3,662
rs2883881	Frauen	0,087	0,093	0,623	0,927	0,686-1,253
	Männer	0,102	0,094	0,747	1,094	0,633-1,893
rs12200646	Frauen	0,148	0,130	0,248	1,160	0,902-1,493
	Männer	0,124	0,104	0,446	1,215	0,737-2,002
rs9384683	Frauen	0,077	0,073	0,729	1,069	0,733-1,56
	Männer	0,095	0,061	0,174	1,612	0,806-3,225
rs7747393	Frauen	0,174	0,157	0,361	1,129	0,870-1,466
	Männer	0,210	0,163	0,183	1,370	0,861-2,182

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
rs10499051	Frauen	0,089	0,094	0,694	0,942	0,698-1,271
	Männer	0,108	0,092	0,533	1,189	0,690-2,047
rs17598170	Frauen	0,047	0,056	0,354	0,825	0,548-1,24
	Männer	0,054	0,050	0,814	1,094	0,517-2,316
rs2802290	Frauen	0,439	0,404	0,101	1,154	0,973-1,369
	Männer	0,437	0,362	0,061	1,365	0,985-1,892
rs12206094	Frauen	0,342	0,291	0,011	1,261	1,055-1,508
	Männer	0,357	0,275	0,024	1,469	1,052-2,05
rs17532496	Frauen	0,037	0,050	0,208	0,733	0,451-1,191
	Männer	0,034	0,027	0,642	1,282	0,449-3,662
rs2802292	Frauen	0,437	0,392	0,035	1,201	1,013-1,424
	Männer	0,435	0,364	0,073	1,344	0,973-1,856
rs17532552	Frauen	0,047	0,057	0,292	0,816	0,558-1,192
	Männer	0,048	0,055	0,695	0,866	0,420-1,784
rs72940696	Frauen	0,054	0,043	0,249	1,255	0,853-1,847
	Männer	0,026	0,032	0,684	0,820	0,314-2,141
rs13220810	Frauen	0,228	0,259	0,099	0,841	0,684-1,033
	Männer	0,227	0,271	0,224	0,790	0,541-1,155
rs17532573	Frauen	0,048	0,060	0,189	0,778	0,534-1,133
	Männer	0,052	0,057	0,795	0,911	0,453-1,833
rs9480865	Frauen	0,186	0,153	0,037	1,268	1,014-1,585
	Männer	0,183	0,167	0,593	1,120	0,738-1,7
rs9386740	Frauen	0,039	0,036	0,760	1,071	0,691-1,66
	Männer	0,065	0,032	0,042	2,107	1,011-4,389
rs17069647	Frauen	0,091	0,100	0,471	0,900	0,676-1,198
	Männer	0,117	0,095	0,356	1,268	0,765-2,102
rs17532643	Frauen	0,047	0,060	0,205	0,784	0,538-1,143
	Männer	0,052	0,057	0,795	0,911	0,453-1,833
rs55758249	Frauen	0,039	0,037	0,810	1,055	0,682-1,633
	Männer	0,065	0,034	0,058	1,988	0,965-4,097
rs2802293	Frauen	0,000	0,001	0,409	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs58157973	Frauen	0,157	0,133	0,133	1,214	0,943-1,565
	Männer	0,115	0,099	0,543	1,182	0,690-2,026
snv_chr6_109028341	Frauen	0,001	0,001	0,790	1,454	0,091-23,28
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs9372191	Frauen	0,037	0,031	0,423	1,214	0,755-1,95
	Männer	0,060	0,026	0,031	2,404	1,059-5,461
rs7775621	Frauen	0,039	0,040	0,935	0,981	0,622-1,549
	Männer	0,050	0,038	0,513	1,309	0,583-2,937
rs72942509	Frauen	0,020	0,022	0,797	0,924	0,506-1,688
	Männer	0,046	0,021	0,075	2,249	0,900-5,621
rs7753734	Frauen	0,186	0,154	0,045	1,256	1,005-1,569
	Männer	0,179	0,167	0,691	1,089	0,714-1,662
rs2764261	Frauen	0,437	0,391	0,029	1,210	1,020-1,435
	Männer	0,433	0,371	0,119	1,294	0,935-1,789
rs7754626	Frauen	0,191	0,154	0,019	1,301	1,044-1,622
	Männer	0,186	0,167	0,531	1,141	0,755-1,725
rs112928189	Frauen	0,041	0,051	0,341	0,797	0,499-1,273
	Männer	0,034	0,024	0,506	1,438	0,491-4,211
rs17532874	Frauen	0,050	0,062	0,253	0,794	0,534-1,18
	Männer	0,046	0,057	0,600	0,811	0,370-1,779
rs2764264	Frauen	0,359	0,316	0,032	1,213	1,017-1,448
	Männer	0,352	0,287	0,078	1,353	0,966-1,895
rs72942519	Frauen	0,131	0,124	0,623	1,070	0,818-1,398
	Männer	0,090	0,089	0,974	1,010	0,561-1,818
rs4317448	Frauen	0,214	0,167	0,006	1,357	1,090-1,689
	Männer	0,184	0,177	0,826	1,049	0,684-1,609

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
snv_chr6_109043940	Frauen	0,000	0,001	0,408	0,000	NA
	Männer	0,004	0,002	0,601	2,066	0,129-33,170
rs12202234	Frauen	0,122	0,115	0,618	1,070	0,8204-1,395
	Männer	0,087	0,087	0,983	1,007	0,558-1,815
snv_chr6_109045936	Frauen	0,002	0,000	0,086	NA	NA
	Männer	0,009	0,004	0,456	2,080	0,291-14,86
rs7341233	Frauen	0,141	0,135	0,696	1,053	0,813-1,364
	Männer	0,110	0,094	0,542	1,187	0,685-2,056
rs17598747	Frauen	0,128	0,112	0,324	1,162	0,863-1,565
	Männer	0,098	0,084	0,616	1,176	0,625-2,213
rs17069665	Frauen	0,135	0,134	0,956	1,007	0,776-1,307
	Männer	0,119	0,090	0,269	1,355	0,789-2,328
snv_chr6_109048572	Frauen	0,333	0,306	0,182	1,135	0,943-1,366
	Männer	0,320	0,281	0,295	1,209	0,848-1,723
rs3813498	Frauen	0,216	0,178	0,024	1,272	1,032-1,567
	Männer	0,233	0,181	0,112	1,366	0,929-2,01
rs7762395	Frauen	0,180	0,153	0,099	1,209	0,965-1,514
	Männer	0,176	0,157	0,526	1,148	0,749-1,761
rs2022464	Frauen	0,355	0,308	0,017	1,240	1,039-1,48
	Männer	0,344	0,280	0,083	1,348	0,961-1,89
rs1935957	Frauen	0,019	0,018	0,996	1,002	0,488-2,059
	Männer	0,051	0,021	0,065	2,502	0,916-6,837
rs72942587	Frauen	0,014	0,022	0,181	0,618	0,304-1,258
	Männer	0,032	0,017	0,252	1,889	0,626-5,699
rs62428909	Frauen	0,108	0,118	0,542	0,909	0,668-1,236
	Männer	0,109	0,115	0,859	0,948	0,530-1,701
rs17069673	Frauen	0,010	0,010	0,883	0,939	0,405-2,178
	Männer	0,017	0,008	0,293	2,080	0,515-8,391
rs9285397	Frauen	0,197	0,156	0,011	1,326	1,066-1,649
	Männer	0,191	0,165	0,379	1,201	0,798-1,807
rs72942591	Frauen	0,017	0,023	0,341	0,731	0,382-1,397
	Männer	0,040	0,021	0,193	1,883	0,716-4,956
rs12213895	Frauen	0,131	0,121	0,528	1,091	0,832-1,43
	Männer	0,087	0,083	0,874	1,050	0,573-1,925
rs4946930	Frauen	0,186	0,148	0,015	1,318	1,054-1,647
	Männer	0,178	0,157	0,470	1,167	0,767-1,774
rs13207511	Frauen	0,231	0,260	0,150	0,854	0,688-1,059
	Männer	0,253	0,276	0,547	0,886	0,598-1,314
rs73763154	Frauen	0,135	0,122	0,408	1,119	0,857-1,461
	Männer	0,099	0,087	0,620	1,155	0,652-2,046
snv_chr6_109063069	Frauen	0,000	0,000	NA	NA	NA
	Männer	0,004	0,000	0,160	NA	NA
rs1935956	Frauen	0,000	0,001	0,395	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs72942595	Frauen	0,126	0,113	0,397	1,138	0,844-1,534
	Männer	0,098	0,085	0,631	1,168	0,620-2,199
rs17310529	Frauen	0,121	0,114	0,637	1,066	0,817-1,392
	Männer	0,089	0,087	0,935	1,024	0,574-1,828
rs12202209	Frauen	0,130	0,124	0,683	1,057	0,809-1,382
	Männer	0,090	0,085	0,833	1,066	0,589-1,928
rs9486913	Frauen	0,193	0,154	0,014	1,316	1,057-1,639
	Männer	0,187	0,158	0,339	1,223	0,809-1,849
rs12207868	Frauen	0,127	0,116	0,500	1,107	0,823-1,489
	Männer	0,099	0,082	0,536	1,223	0,647-2,312
rs10457180	Frauen	0,354	0,308	0,022	1,230	1,030-1,470
	Männer	0,344	0,280	0,085	1,346	0,959-1,889
rs12202049	Frauen	0,129	0,119	0,482	1,095	0,851-1,409
	Männer	0,091	0,091	0,980	1,007	0,583-1,741

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
rs72944303	Frauen	0,016	0,014	0,830	1,091	0,492-2,418
	Männer	0,046	0,021	0,120	2,224	0,793-6,238
rs72944305	Frauen	0,015	0,021	0,313	0,701	0,350-1,403
	Männer	0,035	0,017	0,157	2,118	0,733-6,122
rs12209092	Frauen	0,125	0,114	0,479	1,114	0,826-1,504
	Männer	0,098	0,085	0,631	1,168	0,620-2,199
rs71558326	Frauen	0,229	0,260	0,097	0,847	0,696-1,03
	Männer	0,237	0,264	0,443	0,866	0,600-1,251
rs12197634	Frauen	0,129	0,123	0,668	1,061	0,811-1,388
	Männer	0,090	0,089	0,974	1,010	0,561-1,818
rs72944310	Frauen	0,017	0,022	0,409	0,755	0,387-1,473
	Männer	0,035	0,017	0,143	2,173	0,752-6,281
rs72944313	Frauen	0,023	0,024	0,919	0,970	0,535-1,758
	Männer	0,040	0,019	0,117	2,177	0,805-5,887
rs13217795	Frauen	0,352	0,311	0,041	1,204	1,008-1,439
	Männer	0,332	0,280	0,161	1,279	0,906-1,805
rs11153120	Frauen	0,133	0,125	0,585	1,077	0,825-1,406
	Männer	0,090	0,089	0,974	1,010	0,56-1,818
rs12154031	Frauen	0,119	0,116	0,809	1,033	0,792-1,349
	Männer	0,088	0,087	0,963	1,014	0,568-1,809
rs4946932	Frauen	0,354	0,309	0,025	1,225	1,025-1,463
	Männer	0,350	0,284	0,073	1,359	0,972-1,900
rs12203787	Frauen	0,141	0,135	0,696	1,053	0,813-1,364
	Männer	0,110	0,096	0,594	1,161	0,671-2,007
rs12203834	Frauen	0,130	0,126	0,791	1,035	0,801-1,338
	Männer	0,107	0,096	0,683	1,119	0,653-1,919
rs9480867	Frauen	0,193	0,152	0,010	1,334	1,070-1,663
	Männer	0,187	0,157	0,314	1,237	0,8174-1,871
rs7772662	Frauen	0,136	0,130	0,724	1,049	0,805-1,367
	Männer	0,108	0,100	0,740	1,098	0,631-1,911
rs9400239	Frauen	0,355	0,313	0,036	1,211	1,013-1,449
	Männer	0,332	0,273	0,118	1,320	0,931-1,871
rs4946933	Frauen	0,021	0,019	0,668	1,144	0,619-2,113
	Männer	0,042	0,016	0,053	2,602	0,956-7,086
rs12212067	Frauen	0,125	0,119	0,676	1,058	0,8135-1,375
	Männer	0,112	0,089	0,355	1,290	0,752-2,213
rs9398171	Frauen	0,348	0,306	0,033	1,213	1,016-1,449
	Männer	0,348	0,273	0,043	1,418	1,011-1,989
rs12196996	Frauen	0,108	0,107	0,903	1,017	0,770-1,344
	Männer	0,084	0,080	0,864	1,053	0,580-1,913
rs61756661	Frauen	0,007	0,010	0,576	0,769	0,306-1,935
	Männer	0,000	0,013	0,081	0,000	NA
rs145259784	Frauen	0,002	0,002	0,960	0,956	0,159-5,73
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs374860833	Frauen	0,000	0,001	0,237	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs181686373	Frauen	0,001	0,001	0,799	1,432	0,089-22,92
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
snv_chr6_109092246	Frauen	0,001	0,000	0,231	NA	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
snv_chr6_109092372	Frauen	0,001	0,001	0,799	1,432	0,090-22,92
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs113367269	Frauen	0,003	0,007	0,255	0,476	0,128-1,761
	Männer	0,013	0,006	0,388	2,004	0,402-10,01
rs3778586	Frauen	0,129	0,121	0,572	1,075	0,836-1,384
	Männer	0,117	0,095	0,366	1,262	0,761-2,092
snv_chr6_109093637	Frauen	0,000	0,000	NA	NA	NA
	Männer	0,000	0,002	0,488	0,000	NA

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
rs2153960	Frauen	0,348	0,308	0,044	1,200	1,005-1,433
	Männer	0,351	0,272	0,033	1,444	1,029-2,028
rs3800226	Frauen	0,120	0,112	0,563	1,080	0,832-1,401
	Männer	0,092	0,083	0,675	1,126	0,646-1,963
snv_chr6_109096793	Frauen	0,000	0,001	0,406	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
snv_chr6_109096995	Frauen	0,015	0,009	0,222	1,628	0,739-3,586
	Männer	0,009	0,021	0,294	0,448	0,096-2,090
rs76050897	Frauen	0,001	0,000	0,228	NA	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs62428930	Frauen	0,044	0,044	0,983	0,996	0,663-1,494
	Männer	0,061	0,061	0,976	0,990	0,513-1,912
rs73763159	Frauen	0,117	0,108	0,488	1,098	0,843-1,428
	Männer	0,091	0,085	0,772	1,085	0,624-1,887
rs4945815	Frauen	0,002	0,003	0,710	0,725	0,133-3,968
	Männer	0,004	0,002	0,603	2,057	0,128-33,03
rs3778587	Frauen	0,002	0,001	0,707	1,454	0,204-10,34
	Männer	0,004	0,000	0,150	NA	NA
rs57012130	Frauen	0,001	0,000	0,228	NA	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs3800227	Frauen	0,323	0,275	0,015	1,253	1,045-1,503
	Männer	0,294	0,249	0,206	1,256	0,882-1,787
rs35396874	Frauen	0,344	0,302	0,032	1,216	1,017-1,452
	Männer	0,344	0,272	0,052	1,399	0,997-1,964
rs9398172	Frauen	0,349	0,302	0,017	1,240	1,039-1,481
	Männer	0,339	0,271	0,064	1,379	0,982-1,938
rs61192764	Frauen	0,142	0,134	0,577	1,071	0,842-1,363
	Männer	0,139	0,110	0,267	1,305	0,815-2,092
rs3778588	Frauen	0,188	0,157	0,054	1,244	0,996-1,553
	Männer	0,181	0,159	0,455	1,173	0,772-1,783
rs72944329	Frauen	0,019	0,022	0,643	0,870	0,482-1,57
	Männer	0,043	0,021	0,096	2,100	0,861-5,119
rs3800228	Frauen	0,344	0,301	0,033	1,215	1,016-1,452
	Männer	0,335	0,270	0,076	1,360	0,968-1,913
rs3800229	Frauen	0,344	0,300	0,026	1,224	1,025-1,463
	Männer	0,339	0,272	0,067	1,372	0,977-1,928
rs9374040	Frauen	0,344	0,302	0,032	1,216	1,017-1,452
	Männer	0,339	0,272	0,067	1,372	0,977-1,928
rs9400240	Frauen	0,336	0,301	0,079	1,177	0,981-1,412
	Männer	0,336	0,272	0,086	1,356	0,957-1,921
rs3800230	Frauen	0,142	0,135	0,616	1,063	0,836-1,353
	Männer	0,139	0,106	0,199	1,364	0,849-2,193
rs3800231	Frauen	0,344	0,305	0,049	1,198	1,001-1,434
	Männer	0,333	0,271	0,091	1,348	0,953-1,906
rs1935952	Frauen	0,344	0,302	0,036	1,213	1,013-1,453
	Männer	0,341	0,268	0,051	1,411	0,998-1,994
rs3800232	Frauen	0,143	0,134	0,553	1,076	0,845-1,369
	Männer	0,139	0,106	0,199	1,364	0,849-2,193
rs1935951	Frauen	0,334	0,279	0,008	1,297	1,070-1,573
	Männer	0,289	0,258	0,421	1,170	0,798-1,716
rs1935950	Frauen	0,000	0,001	0,241	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs1935949	Frauen	0,338	0,288	0,013	1,265	1,052-1,521
	Männer	0,330	0,260	0,059	1,403	0,986-1,996
rs4946935	Frauen	0,372	0,313	0,004	1,303	1,088-1,559
	Männer	0,360	0,278	0,032	1,458	1,032-2,060
rs4945816	Frauen	0,343	0,302	0,038	1,208	1,010-1,444
	Männer	0,346	0,261	0,019	1,500	1,067-2,108

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
rs181539642	Frauen	0,006	0,005	0,712	1,229	0,412-3,667
	Männer	0,013	0,002	0,077	6,038	0,625-58,36
rs146847197	Frauen	0,007	0,011	0,371	0,665	0,270-1,636
	Männer	0,004	0,008	0,523	0,496	0,055-4,46
rs4946936	Frauen	0,345	0,302	0,028	1,220	1,021-1,457
	Männer	0,348	0,272	0,039	1,423	1,016-1,991
rs9400241	Frauen	0,343	0,308	0,074	1,175	0,985-1,402
	Männer	0,345	0,274	0,053	1,391	0,995-1,944
snv_chr6_109110853	Frauen	0,012	0,007	0,291	1,584	0,670-3,744
	Männer	0,000	0,004	0,316	0,000	NA
snv_chr6_109110915	Frauen	0,000	0,001	0,403	0,000	NA
	Männer	0,004	0,000	0,158	NA	NA
rs192376282	Frauen	0,017	0,008	0,058	2,079	0,961-4,500
	Männer	0,008	0,024	0,155	0,349	0,077-1,587
snv_chr6_109111537	Frauen	0,001	0,000	0,231	NA	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
snv_chr6_109111718	Frauen	0,008	0,005	0,335	1,641	0,593-4,542
	Männer	0,013	0,004	0,206	3,013	0,500-18,150
rs118138902	Frauen	0,002	0,003	0,701	0,718	0,131-3,927
	Männer	0,004	0,000	0,158	NA	NA
snv_chr6_109112126	Frauen	0,000	0,001	0,403	0,000	NA
	Männer	0,000	0,000	NA	NA	NA
rs111727905	Frauen	0,347	0,312	0,077	1,173	0,983-1,400
	Männer	0,357	0,281	0,037	1,424	1,022-1,986
rs140445546	Frauen	0,002	0,005	0,248	0,408	0,085-1,967
	Männer	0,013	0,006	0,388	2,004	0,402-10,01
rs1268170	Frauen	0,406	0,354	0,044	1,248	1,006-1,549
	Männer	0,389	0,324	0,173	1,329	0,882-2,004
rs1268167	Frauen	0,357	0,350	0,776	1,030	0,841-1,262
	Männer	0,391	0,298	0,035	1,510	1,028-2,218
rs1268165	Frauen	0,380	0,359	0,339	1,095	0,910-1,317
	Männer	0,400	0,303	0,016	1,535	1,081-2,179
rs1268164	Frauen	0,355	0,350	0,836	1,022	0,834-1,252
	Männer	0,397	0,295	0,021	1,569	1,068-2,305
rs1268163	Frauen	0,375	0,353	0,329	1,098	0,910-1,324
	Männer	0,383	0,298	0,036	1,463	1,025-2,088
rs1268162	Frauen	0,356	0,355	0,956	1,006	0,820-1,234
	Männer	0,411	0,297	0,011	1,650	1,120-2,431
rs761779	Frauen	0,174	0,145	0,087	1,238	0,969-1,580
	Männer	0,179	0,149	0,354	1,239	0,787-1,949
rs730167	Frauen	0,178	0,148	0,069	1,250	0,982-1,591
	Männer	0,182	0,148	0,280	1,280	0,817-2,007
rs2207731	Frauen	0,381	0,360	0,335	1,096	0,910-1,320
	Männer	0,403	0,303	0,014	1,551	1,090-2,207
rs9486916	Frauen	0,213	0,180	0,073	1,227	0,981-1,536
	Männer	0,240	0,167	0,029	1,579	1,045-2,385
rs72944364	Frauen	0,021	0,019	0,659	1,148	0,622-2,121
	Männer	0,037	0,016	0,103	2,302	0,824-6,435
rs1268180	Frauen	0,340	0,336	0,867	1,018	0,829-1,250
	Männer	0,372	0,295	0,080	1,415	0,9591-2,087
rs9486917	Frauen	0,133	0,150	0,349	0,875	0,661-1,158
	Männer	0,144	0,107	0,224	1,405	0,811-2,434
rs1268178	Frauen	0,368	0,344	0,269	1,108	0,924-1,329
	Männer	0,360	0,303	0,145	1,294	0,914-1,831
rs1268177	Frauen	0,378	0,353	0,261	1,112	0,924-1,340
	Männer	0,394	0,300	0,020	1,520	1,068-2,163
rs1268174	Frauen	0,346	0,343	0,918	1,011	0,824-1,240
	Männer	0,381	0,295	0,053	1,469	0,994-2,172

SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
rs473268	Frauen	0,371	0,355	0,433	1,073	0,900-1,278
	Männer	0,351	0,299	0,165	1,272	0,905-1,787
rs72944374	Frauen	0,017	0,016	0,910	1,044	0,491-2,222
	Männer	0,047	0,021	0,111	2,265	0,807-6,354
rs531111	Frauen	0,215	0,180	0,050	1,250	0,100-1,562
	Männer	0,182	0,152	0,354	1,236	0,789-1,936
rs479744	Frauen	0,237	0,206	0,079	1,199	0,979-1,467
	Männer	0,230	0,178	0,106	1,382	0,933-2,048
rs557544	Frauen	0,344	0,328	0,461	1,074	0,888-1,300
	Männer	0,343	0,267	0,051	1,437	0,998-2,070
rs4946938	Frauen	0,077	0,073	0,726	1,062	0,759-1,487
	Männer	0,099	0,060	0,075	1,736	0,940-3,2070
rs519007	Frauen	0,178	0,204	0,117	0,842	0,678-1,044
	Männer	0,200	0,157	0,159	1,347	0,890-2,041
rs12208908	Frauen	0,238	0,219	0,313	1,109	0,907-1,356
	Männer	0,281	0,241	0,264	1,228	0,856-1,761

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

Tabelle 8-11: *In silico* Analyse von sechs non-synonymous SNVs in der *FOXO3A*-Genregion unter Anwendung von Polyphen-2, MutPred, PhyloP, SNAP, SNPs&Go und SIFT.

SNV	SNV1 ^a	rs111556510	rs145259784	rs181686373	SNV5 ^b	SNV6 ^c
refBase	G	C	G	A	G	G
VarBase	C	T	A	G	A	A
Position mit AS-Austausch	G91A	A140V	A341T	N454S	R506H	R548H
SNV-Typ	Non-synonymous	Non-synonymous	Non-synonymous	Non-synonymous	Non-synonymous	Non-synonymous
Polyphen2	possibly damaging	benign	benign	possibly damaging	probably damaging (sensitivity: 0.00; specificity: 1.00)	possibly damaging
Score [0;1]	0,765	0,001	0,20	0,929	1	0,,48
Pmut	NEUTRAL	PATHOLOGICAL	NEUTRAL	NEUTRAL	NEUTRAL	NEUTRAL
Score [0;1] bei >0,5 pathogen	0,1648	0,5474	0,3898	0,4954	0,3658	0,2673
Reliability [0;9] 0 low RI; 9 high RI	6	0	2	0	2	4
SIFT	TOLERATED	TOLERATED	TOLERATED	TOLERATED	AFFECT PROTEIN FUNCTION There is LOW CONFIDENCE in this prediction,	TOLERATED
Score [0;1] bei <0,05 pathogen	1,00	0,14	0,60	0,25	0,00	0,16
Median sequence conservation [0;4,32] (sollte aber zwischen [2,75; 3,5] liegen)	3,46	3,52	3,49	3,32	4,32	3,41
Sequences represented at this position	6	4	6	9	2	7
SNAP	Neutral	Neutral	Neutral	Neutral	Neutral	Neutral
Reliability [0;9] 0 low RI; 9 high RI	5	2	1	2	2	6
Expected Accuracy	89%	69%	60%	69%	69%	92%
SNPs&Go	Neutral	Neutral	Disease	Neutral	Disease	Neutral
Reliability [0;10] 0 low RI; 10 high RI	7	8	2	6	3	4
		Neutral	Neutral	Neutral	Neutral	Neutral
		0,281	0,216	0,238	0,323	0,388

^a SNV1=snv_chr6_108989376

^b SNV5=snv_chr6_109092246

^c SNV6=snv_chr6_109092372

Tabelle 8-12: Assoziationsbefunde für drei *FOXO3A*-SNVs in der französischen Replikationsstichprobe (Subpopulation mit hundertjährigen LLI). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die Subpopulation von hundertjährigen LLI (1.082 LLI \geq 100 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) sowie die Subgruppe der Männer (167 LLI \geq 100 Jahre und 725 jüngere Kontrollen) und Frauen (915 LLI \geq 100 Jahre und 1.105 jüngere Kontrollen).

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs2802288 *	gesamt	0.435	0.393	0.002	1.189	1.067-1.326
		Frauen	0.429	0.392	0.019	1.165	1.025-1.323
		Männer	0.466	0.395	0.014	1.340	1.060-1.693
2	rs12206094	gesamt	0.319	0.294	0.041	1.128	1.005-1.265
		Frauen	0.312	0.291	0.153	1.103	0.964-1.263
		Männer	0.361	0.298	0.025	1.332	1.037-1.712
3	rs4946935	gesamt	0.320	0.297	0.063	1.115	0.994-1.251
		Frauen	0.312	0.294	0.207	1.091	0.953-1.248
		Männer	0.365	0.302	0.027	1.327	1.033-1.704

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

* die SNV-Genotypisierung erfolgte mittels TaqMan für 1.091 LLI \geq 100 Jahre und 1.848 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren (gesamte Studienpopulation); die Subgruppe der Männer umfasste 180 LLI \geq 100 Jahre und 736 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren und die Subgruppe der Frauen insgesamt 911 LLI \geq 100 Jahre und 1.112 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren

Tabelle 8-13: Assoziationsbefunde für die 18 ausgewählten SNVs in der französischen Replikationsstichprobe (Subpopulation mit hundertjährigen LLI). Gelistet sind die Frequenzen des seltenen Allels, allelische p-Werte, Odds Ratios und Konfidenzintervalle für die Subpopulation von hundertjährigen LLI (1.082 LLI \geq 100 Jahre und 1.830 jüngere Kontrollen zwischen 35-61 Jahren) sowie die Subgruppe der Männer (167 LLI \geq 100 Jahre und 725 jüngere) und Frauen (915 LLI \geq 100 Jahre und 1.105 jüngere Kontrollen).

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
1	rs9469857	gesamt	0.335	0.346	0.372	0.950	0.849-1.063
		Frauen	0.343	0.349	0.656	0.971	0.852-1.106
		Männer	0.292	0.342	0.083	0.795	0.613-1.031
2	rs11078576	gesamt	0.440	0.414	0.052	1.112	0.999-1.238
		Frauen	0.443	0.405	0.014	1.170	1.032-1.326
		Männer	0.425	0.429	0.904	0.985	0.775-1.253
3	rs4788547	gesamt	0.308	0.296	0.322	1.060	0.944-1.190
		Frauen	0.307	0.286	0.153	1.104	0.964-1.265
		Männer	0.316	0.311	0.846	1.026	0.794-1.326
4	rs39536	gesamt	0.337	0.332	0.715	1.021	0.912-1.143
		Frauen	0.337	0.345	0.615	0.967	0.848-1.102
		Männer	0.335	0.313	0.431	1.107	0.860-1.425
5	rs907875	gesamt	0.331	0.353	0.093	0.908	0.812-1.016
		Frauen	0.327	0.360	0.031	0.866	0.759-0.987
		Männer	0.350	0.341	0.757	1.040	0.810-1.335
6	rs4788567	gesamt	0.288	0.276	0.334	1.060	0.942-1.193
		Frauen	0.289	0.275	0.333	1.071	0.933-1.229
		Männer	0.281	0.277	0.877	1.021	0.784-1.331
7	rs4804633	gesamt	0.299	0.295	0.731	1.021	0.908-1.147
		Frauen	0.300	0.295	0.741	1.023	0.893-1.172
		Männer	0.297	0.295	0.952	1.008	0.776-1.310
8	rs41280278*	gesamt	0.049	0.048	0.780	1.036	0.809-1.326
		Frauen	0.050	0.046	0.476	1.112	0.831-1.489
		Männer	0.045	0.051	0.621	0.870	0.500-1.513

Nr.	SNV	Stichprobe	MAF ^a LLI	MAF ^a Kontrollen	P _{CCA} ^b	OR ^c	95% C.I. ^d
9	rs375241	gesamt	0.217	0.227	0.386	0.945	0.831-1.074
		Frauen	0.216	0.229	0.336	0.929	0.801-1.079
		Männer	0.222	0.223	0.940	0.989	0.743-1.317
10	rs77048564	gesamt	0.020	0.027	0.097	0.739	0.516-1.058
		Frauen	0.021	0.030	0.069	0.689	0.460-1.032
		Männer	0.018	0.023	0.542	0.762	0.317-1.830
11	rs8130757	gesamt	0.014	0.017	0.398	0.830	0.538-1.280
		Frauen	0.015	0.016	0.780	0.931	0.561-1.543
		Männer	0.012	0.019	0.363	0.616	0.215-1.767
12	rs2706372	gesamt	0.219	0.187	0.004	1.216	1.066-1.387
		Frauen	0.221	0.190	0.014	1.211	1.039-1.412
		Männer	0.207	0.183	0.329	1.159	0.862-1.559
13	rs6065921	gesamt	0.184	0.189	0.648	0.969	0.845-1.111
		Frauen	0.185	0.194	0.480	0.945	0.806-1.106
		Männer	0.175	0.180	0.820	0.964	0.705-1.319
14	rs912128	gesamt	0.085	0.091	0.453	0.930	0.771-1.123
		Frauen	0.088	0.100	0.187	0.866	0.700-1.072
		Männer	0.069	0.077	0.631	0.892	0.560-1.421
15	rs45521633	gesamt	0.052	0.050	0.807	1.031	0.810-1.312
		Frauen	0.051	0.050	0.823	1.033	0.779-1.370
		Männer	0.054	0.051	0.831	1.059	0.624-1.798
16	rs10500560	gesamt	0.308	0.313	0.749	0.981	0.875-1.101
		Frauen	0.309	0.324	0.315	0.934	0.817-1.067
		Männer	0.307	0.296	0.679	1.056	0.815-1.369
17	rs76926652	gesamt	0.230	0.231	0.908	0.993	0.875-1.126
		Frauen	0.228	0.240	0.395	0.938	0.811-1.086
		Männer	0.239	0.219	0.413	1.125	0.849-1.491
18	rs10888637	gesamt	0.040	0.042	0.694	0.948	0.725-1.239
		Frauen	0.041	0.046	0.428	0.884	0.652-1.199
		Männer	0.036	0.037	0.953	0.981	0.518-1.857

^a Frequenz des seltenen Allels (engl. *minor allele frequency*, MAF) basierend auf der Kontrollstichprobe

^b allelische p-Werte, die im Rahmen einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mittels χ^2 -Test mit einem Freiheitsgrad ermittelt wurden

^c Odds Ratio bezogen auf das seltene Allel in der Kontrollstichprobe

^d Konfidenzintervall für das Odds Ratio

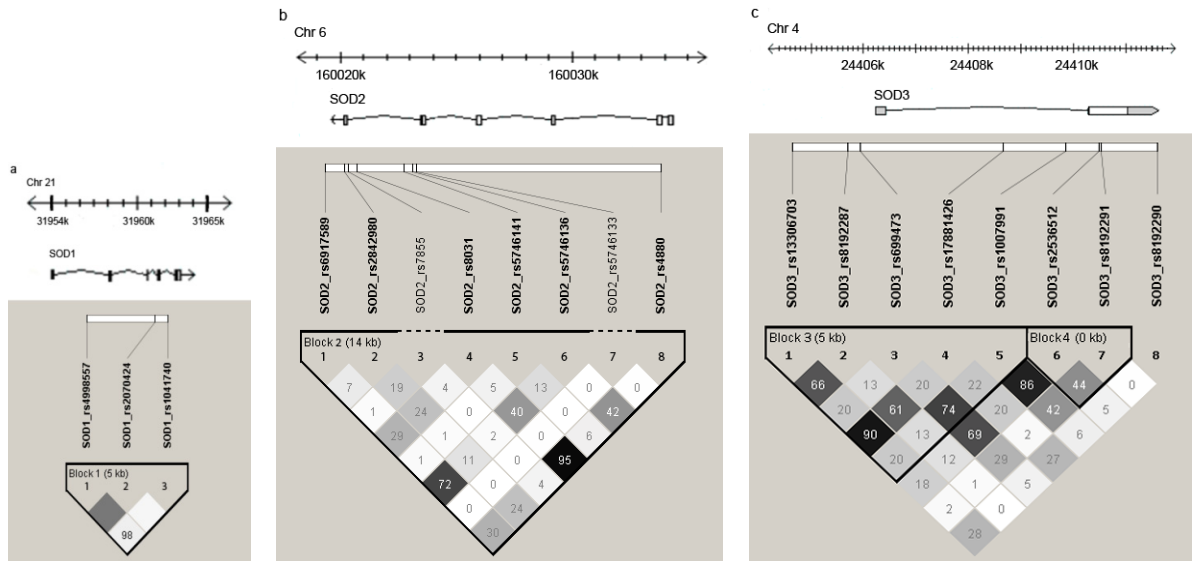


Abbildung 8-1: Schematische Darstellung der *SOD*-Genregionen auf Chromosom 21 (a), 6 (b) und 4 (c). Die physikalische Position der 19 *tagging* SNVs bezieht sich auf das Genome Reference Consortium Human genome build 36. Die LD-Plots wurden mittels Haploview 4.2 nach der Methode von (Gabriel et al., 2002) generiert und basieren auf den jeweiligen r^2 von 1.612 LLI und 1.104 jüngeren Kontrollen.

FOXO3A	GGCGGCG-----CCCGGGAGCCGGAGCCTTCGCGGCGTCCACGTCCCTCCCCGCTGCA	281
FOXO3B	GGCGGCGGCGGCGCCCGGGAGCCGGAGCCTTCGCGGCGTCCACGTCCCTCCCCGCTGCA	294

FOXO3A	CCCCGCCCCGGCGCGAGAGGAGAGCGCGAGAGCCCCAGCCGCGGGCGGGCGGGCGGCGAA	341
FOXO3B	CCCCGCCCCGGCGCGAGAGGAGAGCGCGAGAACCACCCAGCCGCGGCCGGCGGGCGGCGAA	354

FOXO3A	GATGGCAGAGGCACCGGCTTCCCCGGCCCCGCTCTCTCCGCTCGAAGTGGAGCTGGACCC	401
FOXO3B	GATGGCAGAGGCACCGGCTTCCCCGGCCCCGCTTCTCTCCGCTCGAAGTGGAGCTGGACCC	414

FOXO3A	GGAGTTCGAGCCCCAGAGCCGTCCGCGATCCTGTACGTGGCCCCGTCAAAGGCCGGAGCT	461
FOXO3B	GGAGTTCGAGCCCCAGAGCCGTCCGCGATCCTGTACGTGGCCCCGTCAAAGGCCGGAGCT	474

FOXO3A	CCAAGCGAGCCCTGCCAAGCCCTCGGGGGAGACGGCCGC	
FOXO3B	CCAAGCGAGCCCTGCCAAGCCCTCGGGGGAGACGGCCGC	

FOXO3A	GGAGGACGATGAAGACGACGAGGACGGCGGGGACGGGCCGGCTCGGCCATGGCGATCGG	581
FOXO3B	GGAGGACGATGAAGACGACGAGGACGGCGGGGACGGGCCGGCTCGGCCATGGCGATCGG	594

FOXO3A	CGGCGGCGGGGAGCGGCACGCTGGGCTCCG	
FOXO3B	CGGCGGCGGGGAGCCGACGCTGGTCTCCGGGCTGCTCCTTGAGGACTCGGTCCGGGT	

FOXO3A	GCTGGCACCCGGAGGGCAAGACCCCGGGTCTGGGCCAGCCACCGCGCGGGCGGGCTGAG	701
FOXO3B	GCTGGCACCCGGAGGGCAAGACCCCGGGTCTGGGCCAGCCACCGCGCGGGCGGGCTGAG	714

FOXO3A	CGGGGGTACACAGGCGCTGCTGCAGCCTCAGCAACCCTGCCACCCCGCAGCCGGGGG	761
FOXO3B	CGGGGGTACACAGGCGCTGCTGCAGCCTCAGCAACCCTGCCACCCCGCAGCCGGGGG	774

FOXO3A	GGCTGGGGGCTCCGGGCAGCCGAGGAAATGTTTCGTCGCGGCGGAACGCCTGGGGAAACCT	821
FOXO3B	GGCTGGGGGCTCCGGGCAGCCGAGGAAATGTTTCGTCGCGGCGGAACGCCTGGGGAAACCT	834

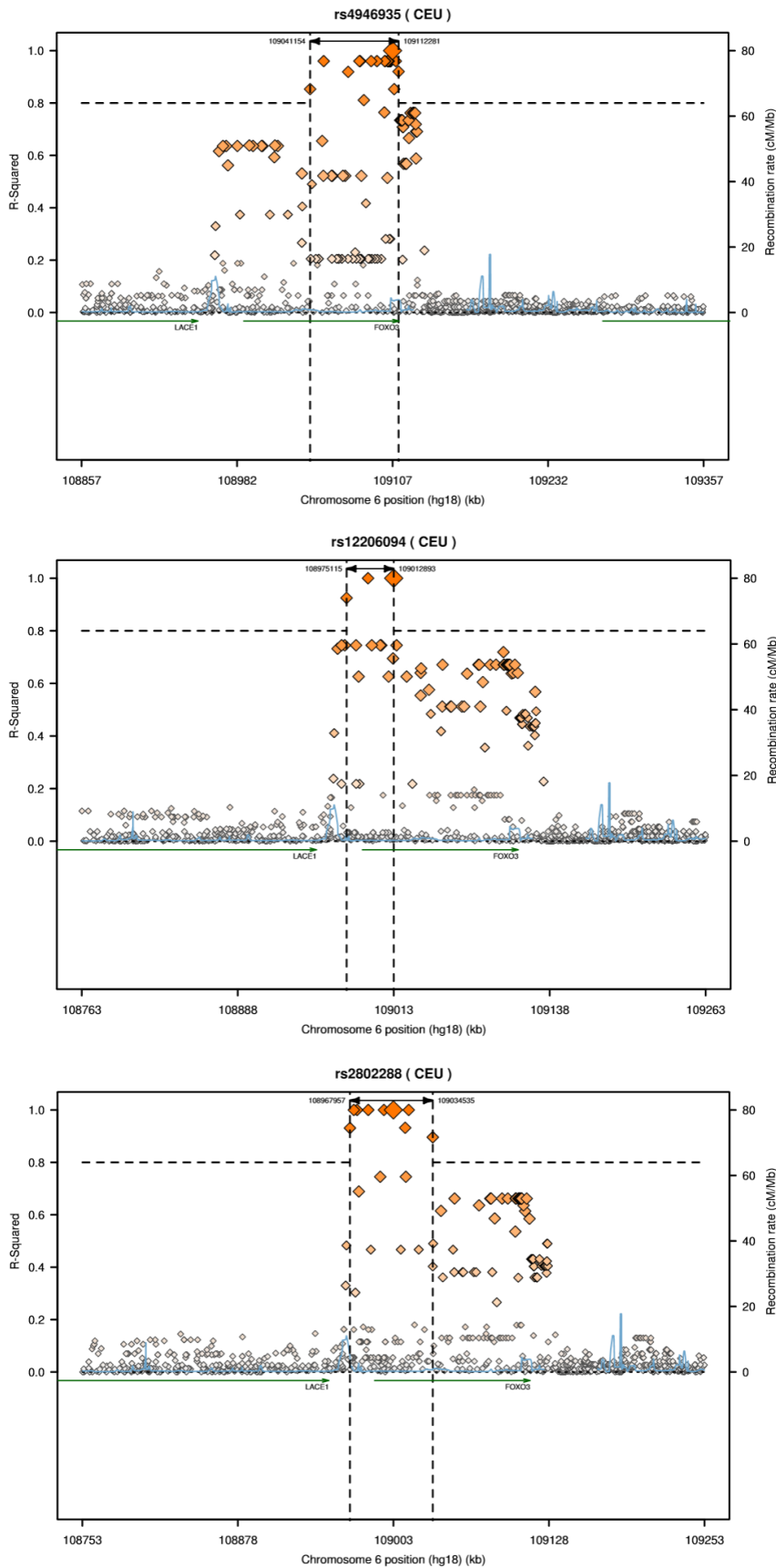
FOXO3A	GTCTACGCGGACCTGATCACCCG	
FOXO3B	GTCTACGCGGACCTGATCACCCG	

FOXO3A	GTCCCAGATCTACGAGTGGATGGTGCCTGCGTGCCTACTTCAAGGATAAGGGCGACAG	941
FOXO3B	GTCCCAGATCTACGAGTGGATGGTGCCTGCGTGCCTACTTCAAGGATAAGGGCAACAG	954

FOXO3A	CAACAGCTCTGCCGCTGGAAGGTGCGTACCCACCCCGGGCTGGCAGCAGGACCCGCCGG	1001
FOXO3B	CAACAGCTCTGCCGCTAGAAGA-----ACTCCATCCGG-----CACAACTGTCA-	1000

FOXO3A	GCCTCTGCGCAGCGGAGACGCGTCTCGGATTGCTCGGAGTGCCTTGGGGCTCCAGG	1061
FOXO3B	-----CTGCATAG-----TCG-ATTTCAT-----GCGGG-TCCAG-	1027
	**** **	
FOXO3A	GCAAGGGGTTGGCAGGGGAGCCTCCGCTGCGAGGCTTTGGGGTTATCTTTGATCCCCG	1121
FOXO3B	-----	

Abbildung 8-2: Side-by-side Alignment für stark homologe Bereiche zwischen der FOXO3A- und FOXO3B-Sequenz. Vier FOXO3A-SNVs, die über die SOLiD-, Illumina- und Sanger-Sequenzierung detektiert wurden, sind in stark homologen Bereichen zum Pseudogen FOXO3B auf Chromosom 17 lokalisiert.



rs4946935			
Proxy	Distanz	r ²	D'
rs4946935	0	1	1
rs1935949	1455	0.96	1
rs1935951	1641	0.96	1
rs1935952	1837	0.96	1
rs3800231	2476	0.96	1
rs4946936	2579	0.96	1
rs9400240	3131	0.96	1
rs9374040	3307	0.96	1
rs3800229	3779	0.96	1
rs3800228	3994	0.96	1
rs9398172	5916	0.96	1
rs35396874	6309	0.96	1
rs2153960	12558	0.96	1
rs9398171	17215	0.96	1
rs4946932	25996	0.96	1
rs13217795	26644	0.96	1
rs2022464	55372	0.96	1
rs111727905	4846	0.92	1
rs10457180	35703	0.919	0.959
rs4945816	1300	0.853	1
rs2764264	66281	0.853	1
rs9400239	23079	0.811	0.956
rs12206094			
rs12206094	0	1	1
rs1536057	20577	1	1
rs6918436	37778	0.925	1
rs2802288			
rs2802288	0	1	1
rs2490272	829	1	1
rs2253310	7622	1	1
rs2802292	12303	1	1
rs768023	20213	1	1
rs6911407	29184	1	1
rs9384679	31796	1	1
rs2802290	9465	0.932	1
rs1575676	34951	0.931	1
rs2764261	31627	0.896	0.963

Abbildung 8-3: LD-Plot für rs4946935, rs12206094 und rs2802288. Die schematische Darstellung der LD-Plots und die Ermittlung der jeweiligen Proxy-SNVs erfolgten unter Anwendung von SNAP (<http://www.broadinstitute.org/mpg/snap/>).

9 Referenzen

- Abecasis G.R., Auton A., Brooks L.D., DePristo M.A., Durbin R.M., Handsaker R.E., Kang H.M., Marth G.T., McVean G.A. (2012) An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 491:56-65.
- Adzhubei I.A., Schmidt S., Peshkin L., Ramensky V.E., Gerasimova A., Bork P., Kondrashov A.S., Sunyaev S.R. (2010) A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* 7:248-9.
- Agerholm-Larsen B., Nordestgaard B.G., Steffensen R., Jensen G., Tybjaerg-Hansen A. (2000) Elevated HDL cholesterol is a risk factor for ischemic heart disease in white women when caused by a common mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene. *Circulation* 101:1907-12.
- Aigaki T., Seong K.H., Matsuo T. (2002) Longevity determination genes in *Drosophila melanogaster*. *Mech Ageing Dev* 123:1531-41.
- Anagnostopoulou K.K., Kolovou G.D., Kostakou P.M., Mihas C., Hatzigeorgiou G., Marvaki C., Degiannis D., Mikhailidis D.P., Cokkinos D.V. (2009) Sex-associated effect of CETP and LPL polymorphisms on postprandial lipids in familial hypercholesterolaemia. *Lipids Health Dis* 8:24.
- Andersen-Ranberg K., M.H.O.-M., Wiik A., Jeune B., Hegedus L. (2004) High prevalence of autoantibodies among Danish centenarians. *Clin Exp Immunol* 138:158-63.
- Andersen H.R., Jeune B., Nybo H., Nielsen J.B., Andersen-Ranberg K., Grandjean P. (1998) Low activity of superoxide dismutase and high activity of glutathione reductase in erythrocytes from centenarians. *Age Ageing* 27:643-8.
- Andersen S.L., Sebastiani P., Dworkis D.A., Feldman L., Perls T.T. (2012) Health span approximates life span among many supercentenarians: compression of morbidity at the approximate limit of life span. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 67:395-405.
- Andrali S.S., Sampley M.L., Vanderford N.L., Ozcan S. (2008) Glucose regulation of insulin gene expression in pancreatic beta-cells. *Biochem J* 415:1-10.
- Andrews S. (2010) FastQC: A quality control tool for high throughput sequence data.
- Anselmi C.V., Malovini A., Roncarati R., Novelli V., Villa F., Condorelli G., Bellazzi R., Puca A.A. (2009) Association of the FOXO3A locus with extreme longevity in a southern Italian centenarian study. *Rejuvenation Res* 12:95-104.
- Applied Biosystems. (2008) Principles of Di-Base Sequencing and the Advantages of Color Space Analysis in the SOLiD™ System.
- Applied Biosystems. (2010) Applied Biosystems SOLiD™ System BioScope™ Software for Scientists Guide.
- Arai Y., Hirose N., Yamamura K., Shimizu K., Takayama M., Ebihara Y., Osono Y. (2001) Serum insulin-like growth factor-1 in centenarians: implications of IGF-1 as a rapid turnover protein. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 56:M79-82.
- Ashford J.W. (2004) APOE genotype effects on Alzheimer's disease onset and epidemiology. *J Mol Neurosci* 23:157-65.
- Atzmon G., Rincon M., Rabizadeh P., Barzilai N. (2005) Biological evidence for inheritance of exceptional longevity. *Mech Ageing Dev* 126:341-5.
- Atzmon G., Cho M., Cawthon R.M., Budagov T., Katz M., Yang X., Siegel G., Bergman A., Huffman D.M., Schechter C.B., Wright W.E., Shay J.W., Barzilai N., Govindaraju D.R., Suh Y. (2010) Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107 Suppl 1:1710-7.
- Austad S.N. (2006) Why women live longer than men: sex differences in longevity. *Gend Med* 3:79-92.
- Bader J.S. (2001) The relative power of SNPs and haplotype as genetic markers for association tests. *Pharmacogenomics* 2:11-24.
- Baerlocher M.O. (2007) Differences in healthy life expectancy among men and women. *CMAJ* 177:1174.
- Baggio G., Donazzan S., Monti D., Mari D., Martini S., Gabelli C., Dalla Vestra M., Previato L., Guido M., Pigozzo S., Cortella I., Crepaldi G., Franceschi C. (1998) Lipoprotein(a) and lipoprotein profile in healthy centenarians: a reappraisal of vascular risk factors. *FASEB J* 12:433-7.
- Bales C.W., Kraus W.E. (2013) Caloric restriction: implications for human cardiometabolic health. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 33:201-8.
- Banasik K., Ribøl-Madsen R., Gjesing A.P., Wegner L., Andersson A., Poulsen P., Borglykke A., Witte D.R., Pedersen O., Hansen T., Vaag A. (2011) The FOXO3A rs2802292 G-allele associates with improved peripheral and hepatic insulin sensitivity and increased skeletal muscle-FOXO3A mRNA expression in twins. *J Clin Endocrinol Metab* 96:E119-24.
- Bansal A., Kwon E.S., Conte D., Jr., Liu H., Gilchrist M.J., MacNeil L.T., Tissenbaum H.A. (2014) Transcriptional regulation of *Caenorhabditis elegans* FOXO/DAF-16 modulates lifespan. *Longev Healthspan* 3:5.

- Bao J.M., Song X.L., Hong Y.Q., Zhu H.L., Li C., Zhang T., Chen W., Zhao S.C., Chen Q. (2014) Association between FOXO3A gene polymorphisms and human longevity: a meta-analysis. *Asian J Androl* 16:446-52.
- Baralle D., Baralle M. (2005) Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet* 42:737-48.
- Barbieri M., Bonafe M., Franceschi C., Paolisso G. (2003a) Insulin/IGF-I-signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285:E1064-71.
- Barbieri M., Rizzo M.R., Manzella D., Grella R., Ragno E., Carbonella M., Abbatecola A.M., Paolisso G. (2003b) Glucose regulation and oxidative stress in healthy centenarians. *Exp Gerontol* 38:137-43.
- Barral S., Cosentino S., Costa R., Matteini A., Christensen K., Andersen S.L., Glynn N.W., Newman A.B., Mayeux R. (2012) Cognitive function in families with exceptional survival. *Neurobiol Aging* 33:619 e1-7.
- Barrett J.C. (2009) Haploview: Visualization and analysis of SNP genotype data. *Cold Spring Harb Protoc* 2009:pdb ip71.
- Barter P.J., Kastelein J.J. (2006) Targeting cholesteryl ester transfer protein for the prevention and management of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 47:492-9.
- Barter P.J., Brewer H.B., Jr., Chapman M.J., Hennekens C.H., Rader D.J., Tall A.R. (2003) Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:160-7.
- Bartke A. (2005) Minireview: role of the growth hormone/insulin-like growth factor system in mammalian aging. *Endocrinology* 146:3718-23.
- Barzilai N., Gabriely I., Gabriely M., Iankowitz N., Sorkin J.D. (2001) Offspring of centenarians have a favorable lipid profile. *J Am Geriatr Soc* 49:76-9.
- Barzilai N., Atzmon G., Schechter C., Schaefer E.J., Cupples A.L., Lipton R., Cheng S., Shuldiner A.R. (2003) Unique lipoprotein phenotype and genotype associated with exceptional longevity. *JAMA* 290:2030-40.
- Bauchet M., McEvoy B., Pearson L.N., Quillen E.E., Sarkisian T., Hovhannesian K., Deka R., Bradley D.G., Shriver M.D. (2007) Measuring European population stratification with microarray genotype data. *Am J Hum Genet* 80:948-56.
- Becker K.G. (2004) The common variants/multiple disease hypothesis of common complex genetic disorders. *Med Hypotheses* 62:309-17.
- Becker T., Loch G., Beyer M., Zinke I., Aschenbrenner A.C., Carrera P., Inhester T., Schultze J.L., Hoch M. (2010) FOXO-dependent regulation of innate immune homeostasis. *Nature* 463:369-73.
- Beekman M., Nederstigt C., Suchiman H.E., Kremer D., van der Breggen R., Lakenberg N., Alemayehu W.G., de Craen A.J., Westendorp R.G., Boomsma D.I., de Geus E.J., Houwing-Duistermaat J.J., Heijmans B.T., Slagboom P.E. (2010) Genome-wide association study (GWAS)-identified disease risk alleles do not compromise human longevity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:18046-9.
- Begum F., Ghosh D., Tseng G.C., Feingold E. (2012) Comprehensive literature review and statistical considerations for GWAS meta-analysis. *Nucleic Acids Res* 40:3777-84.
- Belguise K., Guo S., Sonenshein G.E. (2007) Activation of FOXO3a by the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate induces estrogen receptor alpha expression reversing invasive phenotype of breast cancer cells. *Cancer Res* 67:5763-70.
- Benzi G., Moretti A. (1995) Are reactive oxygen species involved in Alzheimer's disease? *Neurobiol Aging* 16:661-74.
- Bergman A., Atzmon G., Ye K., MacCarthy T., Barzilai N. (2007) Buffering mechanisms in aging: a systems approach toward uncovering the genetic component of aging. *PLoS Comput Biol* 3:e170.
- Bernstein B.E., Birney E., Dunham I., Green E.D., Gunter C., Snyder M. (2012) An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489:57-74.
- Biagi E., Nylund L., Candela M., Ostan R., Bucci L., Pini E., Nikkila J., Monti D., Satokari R., Franceschi C., Brigidi P., De Vos W. (2010) Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* 5:e10667.
- Bik W., Baranowska-Bik A., Wolinska-Witort E., Martynska L., Chmielowska M., Szybinska A., Broczek K., Baranowska B. (2006) The relationship between adiponectin levels and metabolic status in centenarian, early elderly, young and obese women. *Neuro Endocrinol Lett* 27:493-500.
- Bishop B.M. (2013) Systematic Review of CETP Inhibitors for Increasing High-Density Lipoprotein Cholesterol: Where Do These Agents Stand in the Approval Process? *Am J Ther*.
- Blanche H., Cabanne L., Sahbatou M., Thomas G. (2001) A study of French centenarians: are ACE and APOE associated with longevity? *C R Acad Sci III* 324:129-35.
- Blanchè H., Cabanne L., Sahbatou M., Thomas G. (2001) A study of French centenarians: are ACE and APOE associated with longevity? *C R Acad Sci III* 324:129-35.

- Bochem A.E., Kuivenhoven J.A., Stroes E.S. (2013) The promise of cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibition in the treatment of cardiovascular disease. *Curr Pharm Des* 19:3143-9.
- Boehm A.M., Khalturin K., Anton-Erxleben F., Hemmrich G., Klostermeier U.C., Lopez-Quintero J.A., Oberg H.H., Puchert M., Rosenstiel P., Wittlieb J., Bosch T.C. (2012) FoxO is a critical regulator of stem cell maintenance in immortal Hydra. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:19697-702.
- Bokov A., Chaudhuri A., Richardson A. (2004) The role of oxidative damage and stress in aging. *Mech Ageing Dev* 125:811-26.
- Bonafe M., Barbieri M., Marchegiani F., Olivieri F., Ragno E., Giampieri C., Mugianesi E., Centurelli M., Franceschi C., Paolisso G. (2003) Polymorphic variants of insulin-like growth factor I (IGF-I) receptor and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-I plasma levels and human longevity: cues for an evolutionarily conserved mechanism of life span control. *J Clin Endocrinol Metab* 88:3299-304.
- Bonafe M., Olivieri F., Cavallone L., Giovagnetti S., Mayegiani F., Cardelli M., Pieri C., Marra M., Antonicelli R., Lisa R., Rizzo M.R., Paolisso G., Monti D., Franceschi C. (2001) A gender-dependent genetic predisposition to produce high levels of IL-6 is detrimental for longevity. *Eur J Immunol* 31:2357-61.
- Boyle A.P., Hong E.L., Hariharan M., Cheng Y., Schaub M.A., Kasowski M., Karczewski K.J., Park J., Hitz B.C., Weng S., Cherry J.M., Snyder M. (2012) Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. *Genome Res* 22:1790-7.
- Bridge D., Theofilis A.G., Holler R.L., Marcinkevicius E., Steele R.E., Martinez D.E. (2010) FoxO and stress responses in the cnidarian Hydra vulgaris. *PLoS One* 5:e11686.
- Broer L., Buchman A.S., Deelen J., Evans D.S., Faul J.D., Lunetta K.L., Sebastiani P., Smith J.A., Smith A.V., Tanaka T., Yu L., Arnold A.M., Aspelund T., Benjamin E.J., De Jager P.L., Eiriksdottir G., Evans D.A., Garcia M.E., Hofman A., Kaplan R.C., Kardina S.L., Kiel D.P., Oostra B.A., Orwoll E.S., Parimi N., Psaty B.M., Rivadeneira F., Rotter J.I., Seshadri S., Singleton A., Tiemeier H., Uitterlinden A.G., Zhao W., Bandinelli S., Bennett D.A., Ferrucci L., Gudnason V., Harris T.B., Karasik D., Launer L.J., Perls T.T., Slagboom P.E., Tranah G.J., Weir D.R., Newman A.B., van Duijn C.M., Murabito J.M. (2014) GWAS of Longevity in CHARGE Consortium Confirms APOE and FOXO3 Candidacy. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*.
- Bromberg Y., Rost B. (2007) SNAP: predict effect of non-synonymous polymorphisms on function. *Nucleic Acids Res* 35:3823-35.
- Brooks-Wilson A.R. (2013) Genetics of healthy aging and longevity. *Hum Genet* 132:1323-38.
- Bruce C., Sharp D.S., Tall A.R. (1998) Relationship of HDL and coronary heart disease to a common amino acid polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein in men with and without hypertriglyceridemia. *J Lipid Res* 39:1071-8.
- Brunet A., Sweeney L.B., Sturgill J.F., Chua K.F., Greer P.L., Lin Y., Tran H., Ross S.E., Mostoslavsky R., Cohen H.Y., Hu L.S., Cheng H.L., Jedrychowski M.P., Gygi S.P., Sinclair D.A., Alt F.W., Greenberg M.E. (2004) Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science* 303:2011-5.
- Bryois J., Buil A., Evans D.M., Kemp J.P., Montgomery S.B., Conrad D.F., Ho K.M., Ring S., Hurles M., Deloukas P., Davey Smith G., Dermitzakis E.T. (2014) Cis and trans effects of human genomic variants on gene expression. *PLoS Genet* 10:e1004461.
- Bucci L., Ostan R., Giampieri E., Cevenini E., Pini E., Scurti M., Vescovini R., Sansoni P., Caruso C., Mari D., Ronchetti F., Borghi M.O., Ogliari G., Grossi C., Capri M., Salvioli S., Castellani G., Franceschi C., Monti D. (2014) Immune parameters identify Italian centenarians with a longer five-year survival independent of their health and functional status. *Exp Gerontol* 54:14-20.
- Buchanan C.C., Torstenson E.S., Bush W.S., Ritchie M.D. (2012) A comparison of cataloged variation between International HapMap Consortium and 1000 Genomes Project data. *J Am Med Inform Assoc* 19:289-94.
- Buettner G.R. (2011) Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anticancer Agents Med Chem* 11:341-6.
- Burgering B.M., Medema R.H. (2003) Decisions on life and death: FOXO Forkhead transcription factors are in command when PKB/Akt is off duty. *J Leukoc Biol* 73:689-701.
- Bush W.S., Moore J.H. (2012) Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLoS Comput Biol* 8:e1002822.
- Calabrese R., Capriotti E., Fariselli P., Martelli P.L., Casadio R. (2009) Functional annotations improve the predictive score of human disease-related mutations in proteins. *Hum Mutat* 30:1237-44.
- Caliebe A., Kleindorp R., Blanche H., Christiansen L., Puca A.A., Rea I.M., Slagboom E., Flachsbarth F., Christensen K., Rimbach G., Schreiber S., Nebel A. (2010) No or only population-specific effect of PON1 on human longevity: a comprehensive meta-analysis. *Ageing Res Rev* 9:238-44.
- Calnan D.R., Brunet A. (2008) The FoxO code. *Oncogene* 27:2276-88.
- Candore G., Di Lorenzo G., Mansueto P., Melluso M., Frada G., Li Vecchi M., Esposito Pellitteri M., Drago A., Di Salvo A., Caruso C. (1997) Prevalence of organ-specific and non organ-specific autoantibodies in healthy centenarians. *Mech Ageing Dev* 94:183-90.

- Candore G., Colonna-Romano G., Balistreri C.R., Di Carlo D., Grimaldi M.P., Listi F., Nuzzo D., Vasto S., Lio D., Caruso C. (2006a) Biology of longevity: role of the innate immune system. *Rejuvenation Res* 9:143-8.
- Candore G., Balistreri C.R., Listi F., Grimaldi M.P., Vasto S., Colonna-Romano G., Franceschi C., Lio D., Caselli G., Caruso C. (2006b) Immunogenetics, gender, and longevity. *Ann N Y Acad Sci* 1089:516-37.
- Caple F., Williams E.A., Spiers A., Tyson J., Burtle B., Daly A.K., Mathers J.C., Hesketh J.E. (2010) Inter-individual variation in DNA damage and base excision repair in young, healthy non-smokers: effects of dietary supplementation and genotype. *Br J Nutr* 103:1585-93.
- Cappola A.R., Xue Q.L., Ferrucci L., Guralnik J.M., Volpato S., Fried L.P. (2003) Insulin-like growth factor I and interleukin-6 contribute synergistically to disability and mortality in older women. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2019-25.
- Carrieri G., Marzi E., Olivieri F., Marchegiani F., Cavallone L., Cardelli M., Giovagnetti S., Stecconi R., Molendini C., Trapassi C., De Benedictis G., Kletsas D., Franceschi C. (2004) The G/C915 polymorphism of transforming growth factor beta1 is associated with human longevity: a study in Italian centenarians. *Aging Cell* 3:443-8.
- Carter M.E., Brunet A. (2007) FOXO transcription factors. *Curr Biol* 17:R113-4.
- Cash T.P., Pita G., Dominguez O., Alonso M.R., Moreno L.T., Borrás C., Rodriguez-Manas L., Santiago C., Garatachea N., Lucia A., Avellana J.A., Vina J., Gonzalez-Neira A., Serrano M. (2014) Exome sequencing of three cases of familial exceptional longevity. *Aging Cell* 13:1087-90.
- Cava E., Fontana L. (2013) Will calorie restriction work in humans? *Aging (Albany NY)* 5:507-14.
- Cevenini E., Bellavista E., Tieri P., Castellani G., Lescai F., Francesconi M., Mishto M., Santoro A., Valensin S., Salvioli S., Capri M., Zaikin A., Monti D., de Magalhães J.P., Franceschi C. (2010) Systems biology and longevity: an emerging approach to identify innovative anti-aging targets and strategies. *Curr Pharm Des* 16:802-13.
- Chan I.S., Ginsburg G.S. (2011) Personalized medicine: progress and promise. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 12:217-44.
- Charniot J.C., Sutton A., Bonnefont-Rousselot D., Cosson C., Khani-Bittar R., Giral P., Charnaux N., Albertini J.P. (2011) Manganese superoxide dismutase dimorphism relationship with severity and prognosis in cardiogenic shock due to dilated cardiomyopathy. *Free Radic Res* 45:379-88.
- Chasman D.I., Pare G., Zee R.Y., Parker A.N., Cook N.R., Buring J.E., Kwiatkowski D.J., Rose L.M., Smith J.D., Williams P.T., Rieder M.J., Rotter J.I., Nickerson D.A., Krauss R.M., Miletich J.P., Ridker P.M. (2008) Genetic loci associated with plasma concentration of low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, triglycerides, apolipoprotein A1, and Apolipoprotein B among 6382 white women in genome-wide analysis with replication. *Circ Cardiovasc Genet* 1:21-30.
- Chen C.Y., Chang I.S., Hsiung C.A., Wasserman W.W. (2014) On the identification of potential regulatory variants within genome wide association candidate SNP sets. *BMC Med Genomics* 7:34.
- Chen K., Rajewsky N. (2007) The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs. *Nat Rev Genet* 8:93-103.
- Chen Q., Ganapathy S., Singh K.P., Shankar S., Srivastava R.K. (2010) Resveratrol induces growth arrest and apoptosis through activation of FOXO transcription factors in prostate cancer cells. *PLoS One* 5:e15288.
- Cheng C., Alexander R., Min R., Leng J., Yip K.Y., Rozowsky J., Yan K.K., Dong X., Djebali S., Ruan Y., Davis C.A., Carninci P., Lassman T., Gingeras T.R., Guigo R., Birney E., Weng Z., Snyder M., Gerstein M. (2012) Understanding transcriptional regulation by integrative analysis of transcription factor binding data. *Genome Res* 22:1658-67.
- Chi K.R. (2008) The year of sequencing. *Nat Methods* 5:11-4.
- Choudhury A., Hazelhurst S., Meintjes A., Achinike-Oduaran O., Aron S., Gamielidien J., Jalali Sefid Dashti M., Mulder N., Tiffin N., Ramsay M. (2014) Population-specific common SNPs reflect demographic histories and highlight regions of genomic plasticity with functional relevance. *BMC Genomics* 15:437.
- Christensen K., Johnson T.E., Vaupel J.W. (2006) The quest for genetic determinants of human longevity: challenges and insights. *Nat Rev Genet* 7:436-48.
- Clancy D.J., Gems D., Harshman L.G., Oldham S., Stocker H., Hafen E., Leivers S.J., Partridge L. (2001) Extension of life-span by loss of CHICO, a Drosophila insulin receptor substrate protein. *Science* 292:104-6.
- Coles L.S. (2004) Demography of human supercentenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 59:B579-86.
- Collino S., Montoliu I., Martin F.P., Scherer M., Mari D., Salvioli S., Bucci L., Ostan R., Monti D., Biagi E., Brigidi P., Franceschi C., Rezzi S. (2013) Metabolic signatures of extreme longevity in northern Italian centenarians reveal a complex remodeling of lipids, amino acids, and gut microbiota metabolism. *PLoS One* 8:e56564.
- Collins F.S., Brooks L.D., Chakravarti A. (1998) A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res* 8:1229-31.

- Colonna-Romano G., Buffa S., Bulati M., Candore G., Lio D., Pellicano M., Vasto S., Caruso C. (2010) B cells compartment in centenarian offspring and old people. *Curr Pharm Des* 16:604-8.
- Conneely K.N., Capell B.C., Erdos M.R., Sebastiani P., Solovieff N., Swift A.J., Baldwin C.T., Budagov T., Barzilai N., Atzmon G., Puca A.A., Perls T.T., Geesaman B.J., Boehnke M., Collins F.S. (2012) Human longevity and common variations in the LMNA gene: a meta-analysis. *Aging Cell* 11:475-81.
- Cortes A., Brown M.A. (2011) Promise and pitfalls of the Immunochip. *Arthritis Res Ther* 13:101.
- Cossarizza A., Ortolani C., Paganelli R., Barbieri D., Monti D., Sansoni P., Fagiolo U., Castellani G., Bersani F., Londei M., Franceschi C. (1996) CD45 isoforms expression on CD4+ and CD8+ T cells throughout life, from newborns to centenarians: implications for T cell memory. *Mech Ageing Dev* 86:173-95.
- d'Alessio P., Ostan R., Capri M., Franceschi C. (2013) On the Way to Longevity: How to Combat Neuro-Degenerative Disease. *Agricultural and Biological Sciences » "Senescence and Senescence-Related Disorders":135-148.*
- Daly A.K., Day C.P. (2001) Candidate gene case-control association studies: advantages and potential pitfalls. *Br J Clin Pharmacol* 52:489-99.
- Dato S., Passarino G., Rose G., Altomare K., Bellizzi D., Mari V., Feraco E., Franceschi C., De Benedictis G. (2004) Association of the mitochondrial DNA haplogroup J with longevity is population specific. *Eur J Hum Genet* 12:1080-2.
- Davidson M.H. (2012) HDL and CETP Inhibition: Will This DEFINE the Future? *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 14:384-90.
- Dayem Ullah A.Z., Lemoine N.R., Chelala C. (2013) A practical guide for the functional annotation of genetic variations using SNPnexus. *Brief Bioinform* 14:437-47.
- de Benedictis G., Carrieri G., Varcasia O., Bonafe M., Franceschi C. (2000) Inherited variability of the mitochondrial genome and successful aging in humans. *Ann N Y Acad Sci* 908:208-18.
- de Magalhaes J.P., Wuttke D., Wood S.H., Plank M., Vora C. (2012) Genome-environment interactions that modulate aging: powerful targets for drug discovery. *Pharmacol Rev* 64:88-101.
- de Vries-van der Weij J., Zadelaar S., Toet K., Havekes L.M., Kooistra T., Rensen P.C. (2009) Human CETP aggravates atherosclerosis by increasing VLDL-cholesterol rather than by decreasing HDL-cholesterol in APOE*3-Leiden mice. *Atherosclerosis* 206:153-8.
- Dean F.B., Hosono S., Fang L., Wu X., Faruqi A.F., Bray-Ward P., Sun Z., Zong Q., Du Y., Du J., Driscoll M., Song W., Kingsmore S.F., Egholm M., Lasken R.S. (2002) Comprehensive human genome amplification using multiple displacement amplification. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:5261-6.
- Deelen J., Beekman M., Capri M., Franceschi C., Slagboom P.E. (2013a) Identifying the genomic determinants of aging and longevity in human population studies: progress and challenges. *Bioessays* 35:386-96.
- Deelen J., Uh H.W., Monajemi R., van Heemst D., Thijssen P.E., Bohringer S., van den Akker E.B., de Craen A.J., Rivadeneira F., Uitterlinden A.G., Westendorp R.G., Goeman J.J., Slagboom P.E., Houwing-Duistermaat J.J., Beekman M. (2013b) Gene set analysis of GWAS data for human longevity highlights the relevance of the insulin/IGF-1 signaling and telomere maintenance pathways. *Age (Dordr)* 35:235-49.
- Deelen J., Beekman M., Uh H.W., Helmer Q., Kuningas M., Christiansen L., Kremer D., van der Breggen R., Suchiman H.E., Lakenberg N., van den Akker E.B., Passtoors W.M., Tiemeier H., van Heemst D., de Craen A.J., Rivadeneira F., de Geus E.J., Perola M., van der Ouderaa F.J., Gunn D.A., Boomsma D.I., Uitterlinden A.G., Christensen K., van Duijn C.M., Heijmans B.T., Houwing-Duistermaat J.J., Westendorp R.G., Slagboom P.E. (2011) Genome-wide association study identifies a single major locus contributing to survival into old age; the APOE locus revisited. *Aging Cell* 10:686-98.
- Deelen J., Beekman M., Uh H.W., Broer L., Ayers K.L., Tan Q., Kamatani Y., Bennet A.M., Tamm R., Trompet S., Guethbjartsson D.F., Flachsbart F., Rose G., Viktorin A., Fischer K., Nygaard M., Cordell H.J., Crocco P., van den Akker E.B., Bohringer S., Helmer Q., Nelson C.P., Saunders G.I., Alver M., Andersen-Ranberg K., Breen M.E., van der Breggen R., Caliebe A., Capri M., Cevenini E., Collerton J.C., Dato S., Davies K., Ford I., Gampe J., Garagnani P., de Geus E.J., Harrow J., van Heemst D., Heijmans B.T., Heinsen F.A., Hottenga J.J., Hofman A., Jeune B., Jonsson P.V., Lathrop M., Lechner D., Martin-Ruiz C., McNerlan S.E., Mihailov E., Montesanto A., Mooijaart S.P., Murphy A., Nohr E.A., Paternoster L., Postmus I., Rivadeneira F., Ross O.A., Salvioli S., Sattar N., Schreiber S., Stefansson H., Stott D.J., Tiemeier H., Uitterlinden A.G., Westendorp R.G., Willemsen G., Samani N.J., Galan P., Sorensen T.I., Boomsma D.I., Jukema J.W., Rea I.M., Passarino G., de Craen A.J., Christensen K., Nebel A., Stefansson K., Metspalu A., Magnusson P., Blanche H., Christiansen L., Kirkwood T.B., van Duijn C.M., Franceschi C., Houwing-Duistermaat J.J., Slagboom P.E. (2014) Genome-wide association meta-analysis of human longevity identifies a novel locus conferring survival beyond 90 years of age. *Hum Mol Genet*.
- Dejean A.S., Beisner D.R., Ch'en I.L., Kerdiles Y.M., Babour A., Arden K.C., Castrillon D.H., DePinho R.A., Hedrick S.M. (2009) Transcription factor Foxo3 controls the magnitude of T cell immune responses by modulating the function of dendritic cells. *Nat Immunol* 10:504-13.

- Derhovanessian E., Maier A.B., Beck R., Jahn G., Hahnel K., Slagboom P.E., de Craen A.J., Westendorp R.G., Pawelec G. (2010) Hallmark features of immunosenescence are absent in familial longevity. *J Immunol* 185:4618-24.
- Di Angelantonio E., Sarwar N., Perry P., Kaptoge S., Ray K.K., Thompson A., Wood A.M., Lewington S., Sattar N., Packard C.J., Collins R., Thompson S.G., Danesh J. (2009) Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA* 302:1993-2000.
- Di Bona D., Accardi G., Virruso C., Candore G., Caruso C. (2014) Association between Genetic Variations in the Insulin/Insulin-Like Growth Factor (Igf-1) Signaling Pathway and Longevity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Vasc Pharmacol* 12:674-81.
- Dirnagl U., Lauritzen M. (2010) Fighting publication bias: introducing the Negative Results section. *J Cereb Blood Flow Metab* 30:1263-4.
- Donlon T.A., Curb J.D., He Q., Grove J.S., Masaki K.H., Rodriguez B., Elliott A., Willcox D.C., Willcox B.J. (2012) FOXO3 gene variants and human aging: coding variants may not be key players. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 67:1132-9.
- Dumitrescu L., Carty C.L., Taylor K., Schumacher F.R., Hindorff L.A., Ambite J.L., Anderson G., Best L.G., Brown-Gentry K., Buzkova P., Carlson C.S., Cochran B., Cole S.A., Devereux R.B., Duggan D., Eaton C.B., Fornage M., Franceschini N., Haessler J., Howard B.V., Johnson K.C., Laston S., Kolonel L.N., Lee E.T., MacCluer J.W., Manolio T.A., Pendergrass S.A., Quibrera M., Shohet R.V., Wilkens L.R., Haiman C.A., Le Marchand L., Buyske S., Kooperberg C., North K.E., Crawford D.C. (2011) Genetic determinants of lipid traits in diverse populations from the population architecture using genomics and epidemiology (PAGE) study. *PLoS Genet* 7:e1002138.
- Eichner J.E., Dunn S.T., Perveen G., Thompson D.M., Stewart K.E., Stroehla B.C. (2002) Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 155:487-95.
- ElSharawy A., Keller A., Flachsbar F., Wendschlag A., Jacobs G., Kefer N., Brefort T., Leidinger P., Backes C., Meese E., Schreiber S., Rosenstiel P., Franke A., Nebel A. (2012) Genome-wide miRNA signatures of human longevity. *Aging Cell* 11:607-16.
- Engberg H., Oksuzyan A., Jeune B., Vaupel J.W., Christensen K. (2009) Centenarians--a useful model for healthy aging? A 29-year follow-up of hospitalizations among 40,000 Danes born in 1905. *Aging Cell* 8:270-6.
- Ernst J., Kellis M. (2010) Discovery and characterization of chromatin states for systematic annotation of the human genome. *Nat Biotechnol* 28:817-25.
- Evert J., Lawler E., Bogan H., Perls T. (2003) Morbidity profiles of centenarians: survivors, delayers, and escapers. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 58:232-7.
- Ferrer-Costa C., Gelpi J.L., Zamakola L., Parraga I., de la Cruz X., Orozco M. (2005) PMUT: a web-based tool for the annotation of pathological mutations on proteins. *Bioinformatics* 21:3176-8.
- Ferrieres J. (2004) The French paradox: lessons for other countries. *Heart* 90:107-11.
- Finch C.E., Tanzi R.E. (1997) Genetics of aging. *Science* 278:407-11.
- Flachsbar F., Caliebe A., Kleindorp R., Blanche H., von Eller-Eberstein H., Nikolaus S., Schreiber S., Nebel A. (2009) Association of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:2700-5.
- Flachsbar F., Moller M., Daumer C., Gentschew L., Kleindorp R., Krawczak M., Caliebe A., Schreiber S., Nebel A. (2013) Genetic investigation of FOXO3A requires special attention due to sequence homology with FOXO3B. *Eur J Hum Genet* 21:240-2.
- Fontana L., Partridge L., Longo V.D. (2010) Extending healthy life span--from yeast to humans. *Science* 328:321-6.
- Forster M., Forster P., Elsharawy A., Hemmrich G., Kreck B., Wittig M., Thomsen I., Stade B., Barann M., Ellinghaus D., Petersen B.S., May S., Melum E., Schilhabel M.B., Keller A., Schreiber S., Rosenstiel P., Franke A. (2013) From next-generation sequencing alignments to accurate comparison and validation of single-nucleotide variants: the pibase software. *Nucleic Acids Res* 41:e16.
- Forte G., Grossi V., Celestini V., Lucisano G., Scardapane M., Varvara D., Patruno M., Bagnulo R., Loconte D., Giunti L., Petracca A., Giglio S., Genuardi M., Pellegrini F., Resta N., Simone C. (2014) Characterization of the rs2802292 SNP identifies FOXO3A as a modifier locus predicting cancer risk in patients with PJS and PHTS hamartomatous polyposis syndromes. *BMC Cancer* 14:661.
- Franceschi C., Bonafe M. (2003) Centenarians as a model for healthy aging. *Biochem Soc Trans* 31:457-61.
- Franceschi C., Bonafe M., Valensin S. (2000a) Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. *Vaccine* 18:1717-20.
- Franceschi C., Capri M., Monti D., Giunta S., Olivieri F., Sevini F., Panourgia M.P., Invidia L., Celani L., Scurti M., Cevenini E., Castellani G.C., Salvioli S. (2007) Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev* 128:92-105.
- Franceschi C., Monti D., Barbieri D., Salvioli S., Grassilli E., Capri M., Troiano L., Guido M., Bonafe M., Tropea F., Salomoni P., Benatti F., Bellesia E., Macchioni S., Anderlini R., Sansoni P., Mariotti S.,

- Wratten M.L., Tetta C., Cossarizza A. (1996) Successful immunosenescence and the remodelling of immune responses with ageing. *Nephrol Dial Transplant* 11 Suppl 9:18-25.
- Franceschi C., Motta L., Valensin S., Rapisarda R., Franzone A., Berardelli M., Motta M., Monti D., Bonafe M., Ferrucci L., Deiana L., Pes G.M., Carru C., Desole M.S., Barbi C., Sartoni G., Gemelli C., Lescai F., Olivieri F., Marchegiani F., Cardelli M., Cavallone L., Guerresi P., Cossarizza A., Troiano L., Pini G., Sansoni P., Passeri G., Lisa R., Spazzafumo L., Amadio L., Giunta S., Stecconi R., Morresi R., Viticchi C., Mattace R., De Benedictis G., Baggio G. (2000b) Do men and women follow different trajectories to reach extreme longevity? Italian Multicenter Study on Centenarians (IMUSCE). *Aging (Milano)* 12:77-84.
- Francesconi M., Lehner B. (2014) The effects of genetic variation on gene expression dynamics during development. *Nature* 505:208-11.
- Freedman M.L., Reich D., Penney K.L., McDonald G.J., Mignault A.A., Patterson N., Gabriel S.B., Topol E.J., Smoller J.W., Pato C.N., Pato M.T., Petryshen T.L., Kolonel L.N., Lander E.S., Sklar P., Henderson B., Hirschhorn J.N., Altshuler D. (2004) Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. *Nat Genet* 36:388-93.
- Freudenbergh-Hua Y., Freudenbergh J., Vacic V., Abhyankar A., Emde A.K., Ben-Avraham D., Barzilai N., Oswald D., Christen E., Koppel J., Greenwald B., Darnell R.B., Germer S., Atzmon G., Davies P. (2014) Disease variants in genomes of 44 centenarians. *Mol Genet Genomic Med* 2:438-50.
- Friedman D.B., Johnson T.E. (1988) A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. *Genetics* 118:75-86.
- Friedman R.C., Farh K.K., Burge C.B., Bartel D.P. (2009) Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 19:92-105.
- Fries J.F., Bruce B., Chakravarty E. (2011) Compression of morbidity 1980-2011: a focused review of paradigms and progress. *J Aging Res* 2011:261702.
- Furukawa-Hibi Y., Kobayashi Y., Chen C., Motoyama N. (2005) FOXO transcription factors in cell-cycle regulation and the response to oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 7:752-60.
- 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* 296:2225-9.
- Garagnani P., Pirazzini C., Giuliani C., Candela M., Brigidi P., Sevini F., Luiselli D., Bacalini M.G., Salvioli S., Capri M., Monti D., Mari D., Collino S., Delledonne M., Descombes P., Franceschi C. (2014) The three genetics (nuclear DNA, mitochondrial DNA, and gut microbiome) of longevity in humans considered as metaorganisms. *Biomed Res Int* 2014:560340.
- Gems D., McElwee J.J. (2003) Ageing: Microarraying mortality. *Nature* 424:259-61.
- Gentschew L., Flachsbarth F., Kleindorp R., Badarinarayan N., Schreiber S., Nebel A. (2013) Polymorphisms in the superoxidase dismutase genes reveal no association with human longevity in Germans: a case-control association study. *Biogerontology* 14:719-27.
- Gerstein M.B., Kundaje A., Hariharan M., Landt S.G., Yan K.K., Cheng C., Mu X.J., Khurana E., Rozowsky J., Alexander R., Min R., Alves P., Abyzov A., Addleman N., Bhardwaj N., Boyle A.P., Cayting P., Charos A., Chen D.Z., Cheng Y., Clarke D., Eastman C., Euskirchen G., Fietze S., Fu Y., Gertz J., Grubert F., Harmanci A., Jain P., Kasowski M., Lacroute P., Leng J., Lian J., Monahan H., O'Geen H., Ouyang Z., Partridge E.C., Patacsil D., Pauli F., Raha D., Ramirez L., Reddy T.E., Reed B., Shi M., Slifer T., Wang J., Wu L., Yang X., Yip K.Y., Zilberman-Schapira G., Batzoglou S., Sidow A., Farnham P.J., Myers R.M., Weissman S.M., Snyder M. (2012) Architecture of the human regulatory network derived from ENCODE data. *Nature* 489:91-100.
- Ghosh R.K., Ghosh S.M. (2012) Current status of CETP inhibitors in the treatment of hyperlipidemia: an update. *Curr Clin Pharmacol* 7:102-10.
- Giannakou M.E., Partridge L. (2004) The interaction between FOXO and SIRT1: tipping the balance towards survival. *Trends Cell Biol* 14:408-12.
- Giannakou M.E., Goss M., Junger M.A., Hafen E., Leivers S.J., Partridge L. (2004) Long-lived *Drosophila* with overexpressed dFOXO in adult fat body. *Science* 305:361.
- Gibson G. (2011) Rare and common variants: twenty arguments. *Nat Rev Genet* 13:135-45.
- Gierman H.J., Fortney K., Roach J.C., Coles N.S., Li H., Glusman G., Markov G.J., Smith J.D., Hood L., Coles L.S., Kim S.K. (2014) Whole-Genome Sequencing of the World's Oldest People. *PLoS One* 9:e112430.
- Giuliani C., Barbieri M., Li L., Bucci D., Monti G.P., Luiselli C., Franceschi C., Garagnani M.S.a.P. (2014) Transmission from centenarians to their offspring of mtDNA heteroplasmy revealed by ultra-deep sequencing. *Aging* 6:1-14.
- Giunta S. (2008) Exploring the complex relations between inflammation and aging (inflamm-aging): anti-inflamm-aging remodelling of inflamm-aging, from robustness to frailty. *Inflamm Res* 57:558-63.
- Goh V.H., Tong T.Y., Mok H.P., Said B. (2007) Differential impact of aging and gender on lipid and lipoprotein profiles in a cohort of healthy Chinese Singaporeans. *Asian J Androl* 9:787-94.

- Gomez C.R., Boehmer E.D., Kovacs E.J. (2005) The aging innate immune system. *Curr Opin Immunol* 17:457-62.
- Gray I.C., Campbell D.A., Spurr N.K. (2000) Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics. *Hum Mol Genet* 9:2403-8.
- Greer E.L., Brunet A. (2005) FOXO transcription factors at the interface between longevity and tumor suppression. *Oncogene* 24:7410-25.
- Grundberg E., Small K.S., Hedman A.K., Nica A.C., Buil A., Keildson S., Bell J.T., Yang T.P., Meduri E., Barrett A., Nisbett J., Sekowska M., Wilk A., Shin S.Y., Glass D., Travers M., Min J.L., Ring S., Ho K., Thorleifsson G., Kong A., Thorsteindottir U., Ainali C., Dimas A.S., Hassanali N., Ingle C., Knowles D., Krestyaninova M., Lowe C.E., Di Meglio P., Montgomery S.B., Parts L., Potter S., Surdulescu G., Tsaprouni L., Tsoka S., Bataille V., Durbin R., Nestle F.O., O'Rahilly S., Soranzo N., Lindgren C.M., Zondervan K.T., Ahmadi K.R., Schadt E.E., Stefansson K., Smith G.D., McCarthy M.I., Deloukas P., Dermitzakis E.T., Spector T.D. (2012) Mapping cis- and trans-regulatory effects across multiple tissues in twins. *Nat Genet* 44:1084-9.
- Gudmundsson H., Gudbjartsson D.F., Frigge M., Gulcher J.R., Stefansson K. (2000) Inheritance of human longevity in Iceland. *Eur J Hum Genet* 8:743-9.
- Guerin M., Le Goff W., Lassel T.S., Van Tol A., Steiner G., Chapman M.J. (2001) Atherogenic role of elevated CE transfer from HDL to VLDL(1) and dense LDL in type 2 diabetes : impact of the degree of triglyceridemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21:282-8.
- Guo Y., Jamison D.C. (2005) The distribution of SNPs in human gene regulatory regions. *BMC Genomics* 6:140.
- Haan M.N., Mayeda E.R. (2010) Apolipoprotein E Genotype and Cardiovascular Diseases in the Elderly. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 4:361-368.
- Haanen C., Vermes I. (1995) Apoptosis and inflammation. *Mediators Inflamm* 4:5-15.
- Hajer G.R., van der Graaf Y., Bots M.L., Algra A., Visseren F.L. (2009) Low plasma HDL-c, a vascular risk factor in high risk patients independent of LDL-c. *Eur J Clin Invest* 39:680-8.
- Haldar T., Ghosh S. (2012) Effect of population stratification on false positive rates of population-based association analyses of quantitative traits. *Ann Hum Genet* 76:237-45.
- Hardin, Bertoni, Kleinsmith. (2012) *Becker's World of the Cell*.
- Hausman D.B., Fischer J.G., Johnson M.A. (2012) Protein, lipid, and hematological biomarkers in centenarians: definitions, interpretation and relationships with health. *Maturitas* 71:205-12.
- Hedrick S.M., Hess Michelini R., Doedens A.L., Goldrath A.W., Stone E.L. (2012) FOXO transcription factors throughout T cell biology. *Nat Rev Immunol* 12:649-61.
- Heidler T., Hartwig K., Daniel H., Wenzel U. (2010) *Caenorhabditis elegans* lifespan extension caused by treatment with an orally active ROS-generator is dependent on DAF-16 and SIR-2.1. *Biogerontology* 11:183-95.
- Heijmans B.T., Beekman M., Houwing-Duistermaat J.J., Cobain M.R., Powell J., Blauw G.J., van der Ouderaa F., Westendorp R.G., Slagboom P.E. (2006) Lipoprotein particle profiles mark familial and sporadic human longevity. *PLoS Med* 3:e495.
- Heilbronn L.K., Ravussin E. (2003) Calorie restriction and aging: review of the literature and implications for studies in humans. *Am J Clin Nutr* 78:361-9.
- Hercberg S., Kesse-Guyot E., Druesne-Pecollo N., Touvier M., Favier A., Latino-Martel P., Briancon S., Galan P. (2010) Incidence of cancers, ischemic cardiovascular diseases and mortality during 5-year follow-up after stopping antioxidant vitamins and minerals supplements: a postintervention follow-up in the SU.VI.MAX Study. *Int J Cancer* 127:1875-81.
- Herskind A.M., McGue M., Holm N.V., Sorensen T.I., Harvald B., Vaupel J.W. (1996) The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900. *Hum Genet* 97:319-23.
- Heyn H., Li N., Ferreira H.J., Moran S., Pisano D.G., Gomez A., Diez J., Sanchez-Mut J.V., Setien F., Carmona F.J., Puca A.A., Sayols S., Pujana M.A., Serra-Musach J., Iglesias-Platas I., Formiga F., Fernandez A.F., Fraga M.F., Heath S.C., Valencia A., Gut I.G., Wang J., Esteller M. (2012) Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109:10522-7.
- Hitt R., Young-Xu Y., Silver M., Perls T. (1999) Centenarians: the older you get, the healthier you have been. *Lancet* 354:652.
- Hjelmborg J.v., Iachine I., Skytthe A., Vaupel J.W., McGue M., Koskenvuo M., Kaprio J., Pedersen N.L., Christensen K. (2006) Genetic influence on human lifespan and longevity. *Hum Genet* 119:312-21.
- Hoffman B.G., Robertson G., Zavaglia B., Beach M., Cullum R., Lee S., Soukhatcheva G., Li L., Wederell E.D., Thiessen N., Bilenky M., Cezard T., Tam A., Kamoh B., Birol I., Dai D., Zhao Y., Hirst M., Verchere C.B., Helgason C.D., Marra M.A., Jones S.J., Hoodless P.A. (2010) Locus co-occupancy, nucleosome positioning, and H3K4me1 regulate the functionality of FOXA2-, HNF4A-, and PDX1-bound loci in islets and liver. *Genome Res* 20:1037-51.

- Holle R., Happich M., Lowel H., Wichmann H.E. (2005) KORA--a research platform for population based health research. *Gesundheitswesen* 67 Suppl 1:S19-25.
- Holstege H., Pfeiffer W., Sie D., Hulsman M., Nicholas T.J., Lee C.C., Ross T., Lin J., Miller M.A., Ylstra B., Meijers-Heijboer H., Brugman M.H., Staal F.J., Holstege G., Reinders M.J., Harkins T.T., Levy S., Sistermans E.A. (2014) Somatic mutations found in the healthy blood compartment of a 115-yr-old woman demonstrate oligoclonal hematopoiesis. *Genome Res* 24:733-42.
- Hoogendoorn B., Coleman S.L., Guy C.A., Smith K., Bowen T., Buckland P.R., O'Donovan M.C. (2003) Functional analysis of human promoter polymorphisms. *Hum Mol Genet* 12:2249-54.
- Hopfner K.P., Craig L., Moncalian G., Zinkel R.A., Usui T., Owen B.A., Karcher A., Henderson B., Bodmer J.L., McMurray C.T., Carney J.P., Petrini J.H., Tainer J.A. (2002) The Rad50 zinc-hook is a structure joining Mre11 complexes in DNA recombination and repair. *Nature* 418:562-6.
- Howcroft T.K., Campisi J., Louis G.B., Smith M.T., Wise B., Wyss-Coray T., Augustine A.D., McElhaney J.E., Kohanski R., Sierra F. (2013) The role of inflammation in age-related disease. *Aging (Albany NY)* 5:84-93.
- Hunt J.A., Lu Z. (2009) Cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors. *Curr Top Med Chem* 9:419-27.
- Hwang J.W., Rajendrasozhan S., Yao H., Chung S., Sundar I.K., Huyck H.L., Pryhuber G.S., Kinnula V.L., Rahman I. (2011) FOXO3 deficiency leads to increased susceptibility to cigarette smoke-induced inflammation, airspace enlargement, and chronic obstructive pulmonary disease. *J Immunol* 187:987-98.
- Hwangbo D.S., Gershman B., Tu M.P., Palmer M., Tatar M. (2004) Drosophila dFOXO controls lifespan and regulates insulin signalling in brain and fat body. *Nature* 429:562-6.
- Hyun M., Lee J., Lee K., May A., Bohr V.A., Ahn B. (2008) Longevity and resistance to stress correlate with DNA repair capacity in *Caenorhabditis elegans*. *Nucleic Acids Res* 36:1380-9.
- Imhof A., Kovari E., von Gunten A., Gold G., Rivara C.B., Herrmann F.R., Hof P.R., Bouras C., Giannakopoulos P. (2007) Morphological substrates of cognitive decline in nonagenarians and centenarians: a new paradigm? *J Neurol Sci* 257:72-9.
- Inazu A., Jiang X.C., Haraki T., Yagi K., Kamon N., Koizumi J., Mabuchi H., Takeda R., Takata K., Moriyama Y., et al. (1994) Genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency caused by two prevalent mutations as a major determinant of increased levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest* 94:1872-82.
- Ioannidis J.P. (2006) Journals should publish all "null" results and should sparingly publish "positive" results. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15:186.
- Iype T., Francis J., Garmey J.C., Schisler J.C., Neshet R., Weir G.C., Becker T.C., Newgard C.B., Griffen S.C., Mirmira R.G. (2005) Mechanism of insulin gene regulation by the pancreatic transcription factor Pdx-1: application of pre-mRNA analysis and chromatin immunoprecipitation to assess formation of functional transcriptional complexes. *J Biol Chem* 280:16798-807.
- Jaiswal M., LaRusso N.F., Burgart L.J., Gores G.J. (2000) Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. *Cancer Res* 60:184-90.
- Johnson J.L., Slentz C.A., Duscha B.D., Samsa G.P., McCartney J.S., Houmard J.A., Kraus W.E. (2004) Gender and racial differences in lipoprotein subclass distributions: the STRRIDE study. *Atherosclerosis* 176:371-7.
- Johnson T.E. (2006) Recent results: biomarkers of aging. *Exp Gerontol* 41:1243-6.
- Jonkers I.J., Mohrschlatt M.F., Westendorp R.G., van der Laarse A., Smelt A.H. (2002) Severe hypertriglyceridemia with insulin resistance is associated with systemic inflammation: reversal with bezafibrate therapy in a randomized controlled trial. *Am J Med* 112:275-80.
- Jonsson H., Allen P., Peng S.L. (2005) Inflammatory arthritis requires Foxo3a to prevent Fas ligand-induced neutrophil apoptosis. *Nat Med* 11:666-71.
- Ju J., Kim D.H., Bi L., Meng Q., Bai X., Li Z., Li X., Marma M.S., Shi S., Wu J., Edwards J.R., Romu A., Turro N.J. (2006) Four-color DNA sequencing by synthesis using cleavable fluorescent nucleotide reversible terminators. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:19635-40.
- Juul A. (2003) Serum levels of insulin-like growth factor I and its binding proteins in health and disease. *Growth Horm IGF Res* 13:113-70.
- Kaeberlein M., McVey M., Guarente L. (1999) The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev* 13:2570-80.
- Kaeberlein M., Kirkland K.T., Fields S., Kennedy B.K. (2004) Sir2-independent life span extension by calorie restriction in yeast. *PLoS Biol* 2:E296.
- Kaeberlein M., Kirkland K.T., Fields S., Kennedy B.K. (2005) Genes determining yeast replicative life span in a long-lived genetic background. *Mech Ageing Dev* 126:491-504.
- Kaestner K.H., Knochel W., Martinez D.E. (2000) Unified nomenclature for the winged helix/forkhead transcription factors. *Genes Dev* 14:142-6.

- Kakko S., Paivansalo M., Koistinen P., Kesaniemi Y.A., Kinnula V.L., Savolainen M.J. (2003) The signal sequence polymorphism of the MnSOD gene is associated with the degree of carotid atherosclerosis. *Atherosclerosis* 168:147-52.
- Kaneto H., Katakami N., Matsuhisa M., Matsuoka T.A. (2010) Role of reactive oxygen species in the progression of type 2 diabetes and atherosclerosis. *Mediators Inflamm* 2010:453892.
- Kaplan R.C., Petersen A.K., Chen M.H., Teumer A., Glazer N.L., Doring A., Lam C.S., Friedrich N., Newman A., Muller M., Yang Q., Homuth G., Cappola A., Klopp N., Smith H., Ernst F., Psaty B.M., Wichmann H.E., Sawyer D.B., Biffar R., Rotter J.I., Gieger C., Sullivan L.S., Volzke H., Rice K., Spyroglou A., Kroemer H.K., Ida Chen Y.D., Manolopoulou J., Nauck M., Strickler H.D., Goodarzi M.O., Reincke M., Pollak M.N., Bidlingmaier M., Vasan R.S., Wallaschofski H. (2011) A genome-wide association study identifies novel loci associated with circulating IGF-I and IGFBP-3. *Hum Mol Genet* 20:1241-51.
- Karasik D., Demissie S., Cupples L.A., Kiel D.P. (2005) Disentangling the genetic determinants of human aging: biological age as an alternative to the use of survival measures. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 60:574-87.
- Kardaun J.W., White L., Resnick H.E., Petrovitch H., Marcovina S.M., Saunders A.M., Foley D.J., Havlik R.J. (2000) Genotypes and phenotypes for apolipoprotein E and Alzheimer disease in the Honolulu-Asia aging study. *Clin Chem* 46:1548-54.
- Kark J.D., Sinnreich R., Leitersdorf E., Friedlander Y., Shpitzen S., Luc G. (2000) Taq1B CETP polymorphism, plasma CETP, lipoproteins, apolipoproteins and sex differences in a Jewish population sample characterized by low HDL-cholesterol. *Atherosclerosis* 151:509-18.
- Kathiresan S. (2012) Will cholesteryl ester transfer protein inhibition succeed primarily by lowering low-density lipoprotein cholesterol? Insights from human genetics and clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 60:2049-52.
- Keene D., Price C., Shun-Shin M.J., Francis D.P. (2014) Effect on cardiovascular risk of high density lipoprotein targeted drug treatments niacin, fibrates, and CETP inhibitors: meta-analysis of randomised controlled trials including 117,411 patients. *BMJ* 349:g4379.
- Kent J.W., Jr. (2011) Rare variants, common markers: synthetic association and beyond. *Genet Epidemiol* 35 Suppl 1:S80-4.
- Kenyon C. (2005) The plasticity of aging: insights from long-lived mutants. *Cell* 120:449-60.
- Kenyon C. (2011) The first long-lived mutants: discovery of the insulin/IGF-1 pathway for ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 366:9-16.
- Kenyon C.J. (2010) The genetics of ageing. *Nature* 464:504-12.
- Kerdiles Y.M., Stone E.L., Beisner D.R., McGargill M.A., Ch'en I.L., Stockmann C., Katayama C.D., Hedrick S.M. (2010) Foxo transcription factors control regulatory T cell development and function. *Immunity* 33:890-904.
- Khan A.H., Lin A., Smith D.J. (2012) Discovery and characterization of human exonic transcriptional regulatory elements. *PLoS One* 7:e46098.
- Khan T.A., Shah T., Prieto D., Zhang W., Price J., Fowkes G.R., Cooper J., Talmud P.J., Humphries S.E., Sundstrom J., Hubacek J.A., Ebrahim S., Lawlor D.A., Ben-Shlomo Y., Abdollahi M.R., Slioter A.J., Szolnoki Z., Sandhu M., Wareham N., Frikke-Schmidt R., Tybjaerg-Hansen A., Fillenbaum G., Heijmans B.T., Katsuya T., Gromadzka G., Singleton A., Ferrucci L., Hardy J., Worrall B., Rich S.S., Matarin M., Whittaker J., Gaunt T.R., Whincup P., Morris R., Morris J., Donald A., Davey Smith G., Kivimaki M., Kumari M., Smeeth L., Khaw K.T., Nalls M., Meschia J., Sun K., Hui R., Day I., Hingorani A.D., Casas J.P. (2013) Apolipoprotein E genotype, cardiovascular biomarkers and risk of stroke: systematic review and meta-analysis of 14,015 stroke cases and pooled analysis of primary biomarker data from up to 60,883 individuals. *Int J Epidemiol* 42:475-92.
- Khansari N., Shakiba Y., Mahmoudi M. (2009) Chronic inflammation and oxidative stress as a major cause of age-related diseases and cancer. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov* 3:73-80.
- Kimura K.D., Tissenbaum H.A., Liu Y., Ruvkun G. (1997) daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 277:942-6.
- Kinoshita E., van der Linden E., Sanchez H., Wyman C. (2009) RAD50, an SMC family member with multiple roles in DNA break repair: how does ATP affect function? *Chromosome Res* 17:277-88.
- Kirkwood T.B., Cordell H.J., Finch C.E. (2011) Speed-bumps ahead for the genetics of later-life diseases. *Trends Genet* 27:387-8.
- Kitamura T., Ido Kitamura Y. (2007) Role of FoxO Proteins in Pancreatic beta Cells. *Endocr J* 54:507-15.
- Knopp R.H., Paramsothy P., Retzlaff B.M., Fish B., Walden C., Dowdy A., Tsunehara C., Aikawa K., Cheung M.C. (2005) Gender differences in lipoprotein metabolism and dietary response: basis in hormonal differences and implications for cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 7:472-9.
- Koboldt D. (2012) The Current State of dbSNP.
- Koivuniemi A., Vuorela T., Kovanen P.T., Vattulainen I., Hyvonen M.T. (2012) Lipid exchange mechanism of the cholesteryl ester transfer protein clarified by atomistic and coarse-grained simulations. *PLoS Comput Biol* 8:e1002299.

- Kontush A., Chapman M.J. (2006) Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacol Rev* 58:342-74.
- Koropatnick T.A., Kimbell J., Chen R., Grove J.S., Donlon T.A., Masaki K.H., Rodriguez B.L., Willcox B.J., Yano K., Curb J.D. (2008) A prospective study of high-density lipoprotein cholesterol, cholesteryl ester transfer protein gene variants, and healthy aging in very old Japanese-american men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63:1235-40.
- Kraft S., Kinet J.P. (2007) New developments in FcεpsilonRI regulation, function and inhibition. *Nat Rev Immunol* 7:365-78.
- Krawczak M., Nikolaus S., von Eberstein H., Croucher P.J., El Mokhtari N.E., Schreiber S. (2006) PopGen: population-based recruitment of patients and controls for the analysis of complex genotype-phenotype relationships. *Community Genet* 9:55-61.
- Kuivenhoven J.A., de Knijff P., Boer J.M., Smalheer H.A., Botma G.J., Seidell J.C., Kastelein J.J., Pritchard P.H. (1997) Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:560-8.
- Kumar P., Henikoff S., Ng P.C. (2009) Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc* 4:1073-81.
- Kuningas M., Mooijaart S.P., van Heemst D., Zwaan B.J., Slagboom P.E., Westendorp R.G. (2008) Genes encoding longevity: from model organisms to humans. *Aging Cell* 7:270-80.
- Kwon E.S., Narasimhan S.D., Yen K., Tissenbaum H.A. (2010) A new DAF-16 isoform regulates longevity. *Nature* 466:498-502.
- Ladiges W., Van Remmen H., Strong R., Ikeno Y., Treuting P., Rabinovitch P., Richardson A. (2009) Lifespan extension in genetically modified mice. *Aging Cell* 8:346-52.
- Lakowski B., Hekimi S. (1998) The genetics of caloric restriction in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:13091-6.
- Lam E.W., Francis R.E., Petkovic M. (2006) FOXO transcription factors: key regulators of cell fate. *Biochem Soc Trans* 34:722-6.
- Lamarche B., Tchernof A., Moorjani S., Cantin B., Dagenais G.R., Lupien P.J., Despres J.P. (1997) Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation* 95:69-75.
- Laron Z. (2008) The GH-IGF1 axis and longevity. The paradigm of IGF1 deficiency. *Hormones (Athens)* 7:24-7.
- Lassegue B., Griendling K.K. (2004) Reactive oxygen species in hypertension; An update. *Am J Hypertens* 17:852-60.
- Lee G.R., Fields P.E., Griffin T.J., Flavell R.A. (2003) Regulation of the Th2 cytokine locus by a locus control region. *Immunity* 19:145-53.
- Lee J.C., Espeli M., Anderson C.A., Linterman M.A., Pocock J.M., Williams N.J., Roberts R., Viatte S., Fu B., Peshu N., Hien T.T., Phu N.H., Wesley E., Edwards C., Ahmad T., Mansfield J.C., Geary R., Dunstan S., Williams T.N., Barton A., Vinuesa C.G., Parkes M., Lyons P.A., Smith K.G. (2013) Human SNP links differential outcomes in inflammatory and infectious disease to a FOXO3-regulated pathway. *Cell* 155:57-69.
- Lee P.H., Shatkay H. (2009) An integrative scoring system for ranking SNPs by their potential deleterious effects. *Bioinformatics* 25:1048-55.
- Lee S.J., Murphy C.T., Kenyon C. (2009) Glucose shortens the life span of *C. elegans* by downregulating DAF-16/FOXO activity and aquaporin gene expression. *Cell Metab* 10:379-91.
- Lee S.J., Hwang A.B., Kenyon C. (2010) Inhibition of respiration extends *C. elegans* life span via reactive oxygen species that increase HIF-1 activity. *Curr Biol* 20:2131-6.
- Legato M.J. (2000) Dyslipidemia, gender, and the role of high-density lipoprotein cholesterol: implications for therapy. *Am J Cardiol* 86:15L-18L.
- Lescai F., Blanche H., Nebel A., Beekman M., Sahbatou M., Flachsbarth F., Slagboom E., Schreiber S., Sorbi S., Passarino G., Franceschi C. (2009) Human longevity and 11p15.5: a study in 1321 centenarians. *Eur J Hum Genet* 17:1515-9.
- Li B., Krishnan V.G., Mort M.E., Xin F., Kamati K.K., Cooper D.N., Mooney S.D., Radivojac P. (2009a) Automated inference of molecular mechanisms of disease from amino acid substitutions. *Bioinformatics* 25:2744-50.
- Li H., Durbin R. (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics* 25:1754-60.
- Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., Marth G., Abecasis G., Durbin R. (2009b) The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25:2078-9.
- Li M., Reilly M.P., Rader D.J., Wang L.S. (2010a) Correcting population stratification in genetic association studies using a phylogenetic approach. *Bioinformatics* 26:798-806.

- Li Q., Makri A., Lu Y., Marchand L., Grabs R., Rousseau M., Ounissi-Benkalha H., Pelletier J., Robert F., Harmsen E., Hudson T.J., Pastinen T., Polychronakos C., Qu H.Q. (2013) Genome-wide search for exonic variants affecting translational efficiency. *Nat Commun* 4:2260.
- Li X., Howard T.D., Zheng S.L., Haselkorn T., Peters S.P., Meyers D.A., Bleecker E.R. (2010b) Genome-wide association study of asthma identifies RAD50-IL13 and HLA-DR/DQ regions. *J Allergy Clin Immunol* 125:328-335 e11.
- Li Y., Chang M., Schrodi S.J., Callis-Duffin K.P., Matsunami N., Civello D., Bui N., Catanese J.J., Leppert M.F., Krueger G.G., Begovich A.B. (2008) The 5q31 variants associated with psoriasis and Crohn's disease are distinct. *Hum Mol Genet* 17:2978-85.
- Li Y., Wang W.J., Cao H., Lu J., Wu C., Hu F.Y., Guo J., Zhao L., Yang F., Zhang Y.X., Li W., Zheng G.Y., Cui H., Chen X., Zhu Z., He H., Dong B., Mo X., Zeng Y., Tian X.L. (2009c) Genetic association of FOXO1A and FOXO3A with longevity trait in Han Chinese populations. *Hum Mol Genet* 18:4897-904.
- Libina N., Berman J.R., Kenyon C. (2003) Tissue-specific activities of *C. elegans* DAF-16 in the regulation of lifespan. *Cell* 115:489-502.
- Lin K., Dorman J.B., Rodan A., Kenyon C. (1997) daf-16: An HNF-3/forkhead family member that can function to double the life-span of *Caenorhabditis elegans*. *Science* 278:1319-22.
- Lin K., Hsin H., Libina N., Kenyon C. (2001) Regulation of the *Caenorhabditis elegans* longevity protein DAF-16 by insulin/IGF-1 and germline signaling. *Nat Genet* 28:139-45.
- Lin L., Hron J.D., Peng S.L. (2004) Regulation of NF-kappaB, Th activation, and autoinflammation by the forkhead transcription factor Foxo3a. *Immunity* 21:203-13.
- Lin S.J., Defossez P.A., Guarente L. (2000) Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 289:2126-8.
- Lio D., Scola L., Crivello A., Colonna-Romano G., Candore G., Bonafe M., Cavallone L., Franceschi C., Caruso C. (2002) Gender-specific association between -1082 IL-10 promoter polymorphism and longevity. *Genes Immun* 3:30-3.
- Liu L., Zhao S.P., Wen T., Zhou H.N., Hu M., Li J.X. (2008) Postprandial hypertriglyceridemia associated with inflammatory response and procoagulant state after a high-fat meal in hypertensive patients. *Coron Artery Dis* 19:145-51.
- Ljungquist B., Berg S., Lanke J., McClearn G.E., Pedersen N.L. (1998) The effect of genetic factors for longevity: a comparison of identical and fraternal twins in the Swedish Twin Registry. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 53:M441-6.
- Longo V.D., Finch C.E. (2003) Evolutionary medicine: from dwarf model systems to healthy centenarians? *Science* 299:1342-6.
- Lu T., Pan Y., Kao S.Y., Li C., Kohane I., Chan J., Yankner B.A. (2004) Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 429:883-91.
- Lunetta K.L., Murabito J.M. (2012) Genetics of human longevity and healthy aging. , In: Newman AB, Cauley JA, editors. *The Epidemiology of Aging*. , Springer, New York. pp. 215-35.
- Maggio M., De Vita F., Lauretani F., Butto V., Bondi G., Cattabiani C., Nouvenne A., Meschi T., Dall'Aglio E., Ceda G.P. (2013) IGF-1, the cross road of the nutritional, inflammatory and hormonal pathways to frailty. *Nutrients* 5:4184-205.
- Magri F., Muzzoni B., Cravello L., Fioravanti M., Busconi L., Camozzi D., Vignati G., Ferrari E. (2002) Thyroid function in physiological aging and in centenarians: possible relationships with some nutritional markers. *Metabolism* 51:105-9.
- Maiese K., Chong Z.Z., Hou J., Shang Y.C. (2009) The "O" class: crafting clinical care with FoxO transcription factors. *Adv Exp Med Biol* 665:242-60.
- Main L.A., Okumura-Noji K., Ohnishi T., Yokoyama S. (1998) Cholesteryl ester transfer protein reaction between plasma lipoproteins. *J Biochem* 124:237-43.
- Manaster C., Zheng W., Teuber M., Wachter S., Doring F., Schreiber S., Hampe J. (2005) InSNP: a tool for automated detection and visualization of SNPs and InDels. *Hum Mutat* 26:11-9.
- Mancinelli L., Cronin M., Sadee W. (2000) Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine. *AAPS PharmSci* 2:E4.
- Manke T., Heinig M., Vingron M. (2010) Quantifying the effect of sequence variation on regulatory interactions. *Hum Mutat* 31:477-83.
- Mann C.J. (2003) Observational research methods. Research design II: cohort, cross sectional, and case-control studies. *Emerg Med J* 20:54-60.
- Manolio T.A., Collins F.S., Cox N.J., Goldstein D.B., Hindorf 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., McCarroll S.A., Visscher P.M. (2009) Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461:747-53.

- Mariotti S., Sansoni P., Barbesino G., Caturegli P., Monti D., Cossarizza A., Giacomelli T., Passeri G., Fagiolo U., Pinchera A., et al. (1992) Thyroid and other organ-specific autoantibodies in healthy centenarians. *Lancet* 339:1506-8.
- Marsh D.G., Neely J.D., Breazeale D.R., Ghosh B., Freidhoff L.R., Ehrlich-Kautzky E., Schou C., Krishnaswamy G., Beaty T.H. (1994) Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science* 264:1152-6.
- Maston G.A., Evans S.K., Green M.R. (2006) Transcriptional regulatory elements in the human genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 7:29-59.
- Maurano M.T., Humbert R., Rynes E., Thurman R.E., Haugen E., Wang H., Reynolds A.P., Sandstrom R., Qu H., Brody J., Shafer A., Neri F., Lee K., Kutayavin T., Stehling-Sun S., Johnson A.K., Canfield T.K., Giste E., Diegel M., Bates D., Hansen R.S., Neph S., Sabo P.J., Heimfeld S., Raubitschek A., Ziegler S., Cotsapas C., Sotoodehnia N., Glass I., Sunyaev S.R., Kaul R., Stamatoyannopoulos J.A. (2012) Systematic localization of common disease-associated variation in regulatory DNA. *Science* 337:1190-5.
- McGue M., Vaupel J.W., Holm N., Harvald B. (1993) Longevity is moderately heritable in a sample of Danish twins born 1870-1880. *J Gerontol* 48:B237-44.
- McKenna A., Hanna M., Banks E., Sivachenko A., Cibulskis K., Kernysky A., Garimella K., Altshuler D., Gabriel S., Daly M., DePristo M.A. (2010) The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res* 20:1297-303.
- McKernan K.J., Peckham H.E., Costa G.L., McLaughlin S.F., Fu Y., Tsung E.F., Clouser C.R., Duncan C., Ichikawa J.K., Lee C.C., Zhang Z., Ranade S.S., Dimalanta E.T., Hyland F.C., Sokolsky T.D., Zhang L., Sheridan A., Fu H., Hendrickson C.L., Li B., Kotler L., Stuart J.R., Malek J.A., Manning J.M., Antipova A.A., Perez D.S., Moore M.P., Hayashibara K.C., Lyons M.R., Beaudoin R.E., Coleman B.E., Laptewicz M.W., Sannicandro A.E., Rhodes M.D., Gottimukkala R.K., Yang S., Bafna V., Bashir A., MacBride A., Alkan C., Kidd J.M., Eichler E.E., Reese M.G., De La Vega F.M., Blanchard A.P. (2009) Sequence and structural variation in a human genome uncovered by short-read, massively parallel ligation sequencing using two-base encoding. *Genome Res* 19:1527-41.
- McVicker G., van de Geijn B., Degner J.F., Cain C.E., Banovich N.E., Raj A., Lewellen N., Myrthil M., Gilad Y., Pritchard J.K. (2013) Identification of genetic variants that affect histone modifications in human cells. *Science* 342:747-9.
- Mecocci P., Polidori M.C., Troiano L., Cherubini A., Cecchetti R., Pini G., Straatman M., Monti D., Stahl W., Sies H., Franceschi C., Senin U. (2000) Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med* 28:1243-8.
- Meissner A., Mikkelsen T.S., Gu H., Wernig M., Hanna J., Sivachenko A., Zhang X., Bernstein B.E., Nusbaum C., Jaffe D.B., Gnirke A., Jaenisch R., Lander E.S. (2008) Genome-scale DNA methylation maps of pluripotent and differentiated cells. *Nature* 454:766-70.
- Merry B.J. (2000) Calorie restriction and age-related oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci* 908:180-98.
- Mi Q., Li N.Y., Ziraldo C., Ghuma A., Mikheev M., Squires R., Okonkwo D.O., Verdolini-Abbott K., Constantine G., An G., Vodovotz Y. (2010) Translational systems biology of inflammation: potential applications to personalized medicine. *Per Med* 7:549-559.
- Miano J.M. (2003) Serum response factor: toggling between disparate programs of gene expression. *J Mol Cell Cardiol* 35:577-93.
- Miyaji C., Watanabe H., Toma H., Akisaka M., Tomiyama K., Sato Y., Abo T. (2000) Functional alteration of granulocytes, NK cells, and natural killer T cells in centenarians. *Hum Immunol* 61:908-16.
- Mohammadpour A.H., Akhlaghi F. (2013) Future of cholesteryl ester transfer protein (CETP) inhibitors: a pharmacological perspective. *Clin Pharmacokinet* 52:615-26.
- Monsalve M., Olmos Y. (2011) The complex biology of FOXO. *Curr Drug Targets* 12:1322-50.
- Mooijaart S.P., van Heemst D., Noordam R., Rozing M.P., Wijnsman C.A., de Craen A.J., Westendorp R.G., Beekman M., Slagboom P.E. (2011) Polymorphisms associated with type 2 diabetes in familial longevity: The Leiden Longevity Study. *Aging (Albany NY)* 3:55-62.
- Moore C.B., Wallace J.R., Wolfe D.J., Frase A.T., Pendergrass S.A., Weiss K.M., Ritchie M.D. (2013) Low frequency variants, collapsed based on biological knowledge, uncover complexity of population stratification in 1000 genomes project data. *PLoS Genet* 9:e1003959.
- Morrell C.N. (2008) Reactive oxygen species: finding the right balance. *Circ Res* 103:571-2.
- Morris B.J., Donlon T.A., He Q., Grove J.S., Masaki K.H., Elliott A., Willcox D.C., Allsopp R., Willcox B.J. (2014) Genetic Analysis of TOR Complex Gene Variation With Human Longevity: A Nested Case-Control Study of American Men of Japanese Ancestry. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*.
- Mülhardt C. (2009) *Der Experimentator- Molekularbiologie/ Genomics*. 6 ed. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G., Erlich H. (1992) Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. 1986. *Biotechnology* 24:17-27.

- Murabito J.M., Yuan R., Lunetta K.L. (2012) The search for longevity and healthy aging genes: insights from epidemiological studies and samples of long-lived individuals. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 67:470-9.
- Mureddu G.F., Brandimarte F., De Luca L. (2012) High-density lipoprotein levels and risk of cardiovascular events: a review. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 13:575-86.
- Murphy C.T., McCarroll S.A., Bargmann C.I., Fraser A., Kamath R.S., Ahringer J., Li H., Kenyon C. (2003) Genes that act downstream of DAF-16 to influence the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 424:277-83.
- Murray C.J., Abraham J, Ali MK, Alvarado M, Atkinson C, Baddour LM, Bartels DH, Benjamin EJ, Bhalla K, Birbeck G, Bolliger I, Burstein R C.E., Chen H, Chou D, Chugh SS, Cohen A, Colson K, Cooper LT, Couser W, Criqui MH, Dabhadkar KC, Dahodwala N, Danaei G, Dellavalle RP, Jarlais DC, Dicker D, Ding EL, Dorsey E, Duber H, Ebel BE, Engell RE, Ezzati M, Felson DT, Finucane MM, Flaxman S, Flaxman AD, Fleming T, Forouzanfar MH, Freedman G, Freeman MK, Gabriel SE, Gakidou E, Gillum RF, Gonzalez-Medina D, Gosselin R, Grant B, Gutierrez HR, Hagan H, Havmoeller R, Hoffman H, Jacobsen KH, James SL, Jasrasaria R, Jayaraman S, Johns N, Kassebaum N, Khatibzadeh S, Knowlton LM, Lan Q, Leasher JL, Lim S, Lin JK, Lipshultz SE, London S, Lozano R, Lu Y, MacIntyre MF, Mallinger L, McDermott MM, Meltzer M, Mensah GA, Michaud C, Miller TR, Mock C, Moffitt TE, Mokdad AA, Mokdad AH, Moran AE, Mozaffarian D, Murphy T, Naghavi M, Narayan K, Nelson RG, Olives C, Omer SB, Ortblad K, Ostro B, Pelizzari PM, Phillips D, Pope C 3rd, Raju M, Ranganathan D, Razavi H, Ritz B, Rivara FP, Roberts T, Sacco RL, Salomon JA, Sampson U, Sanman E, Sapkota A, Schwebel DC, Shahrzad S, Shibuya K, Shivakoti R, Silberberg D, Singh GM, Singh D, Singh JA, Sleet DA, Steenland K, Tavakkoli M, Taylor JA, Thurston GD, Towbin JA, Vavilala MS, Vos T, Wagner GR, Weinstock MA, Weisskopf MG, Wilkinson JD, Wulf S, Zabetian A, Lopez AD. (2013) The state of US health, 1990-2010: burden of diseases, injuries, and risk factors. *JAMA* 310:591-608.
- Nakae J., Oki M., Cao Y. (2008) The FoxO transcription factors and metabolic regulation. *FEBS Lett* 582:54-67.
- Nebel A., Croucher P.J., Stiegeler R., Nikolaus S., Krawczak M., Schreiber S. (2005) No association between microsomal triglyceride transfer protein (MTP) haplotype and longevity in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:7906-9.
- Nebel A., Flachsbarth F., Till A., Caliebe A., Blanche H., Arlt A., Hasler R., Jacobs G., Kleindorp R., Franke A., Shen B., Nikolaus S., Krawczak M., Rosenstiel P., Schreiber S. (2009) A functional EXO1 promoter variant is associated with prolonged life expectancy in centenarians. *Mech Ageing Dev* 130:691-9.
- Nebel A., Kleindorp R., Caliebe A., Nothnagel M., Blanche H., Junge O., Wittig M., Ellinghaus D., Flachsbarth F., Wichmann H.E., Meitinger T., Nikolaus S., Franke A., Krawczak M., Lathrop M., Schreiber S. (2011) A genome-wide association study confirms APOE as the major gene influencing survival in long-lived individuals. *Mech Ageing Dev* 132:324-30.
- Neph S., Vierstra J., Stergachis A.B., Reynolds A.P., Haugen E., Vernot B., Thurman R.E., John S., Sandstrom R., Johnson A.K., Maurano M.T., Humbert R., Rynes E., Wang H., Vong S., Lee K., Bates D., Diegel M., Roach V., Dunn D., Neri J., Schafer A., Hansen R.S., Kutayavin T., Giste E., Weaver M., Canfield T., Sabo P., Zhang M., Balasundaram G., Byron R., MacCoss M.J., Akey J.M., Bender M.A., Groudine M., Kaul R., Stamatoyannopoulos J.A. (2012) An expansive human regulatory lexicon encoded in transcription factor footprints. *Nature* 489:83-90.
- Newman A.B., Boudreau R.M., Naydeck B.L., Fried L.F., Harris T.B. (2008) A physiologic index of comorbidity: relationship to mortality and disability. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63:603-9.
- Newman A.B., Glynn N.W., Taylor C.A., Sebastiani P., Perls T.T., Mayeux R., Christensen K., Zmuda J.M., Barral S., Lee J.H., Simonsick E.M., Walston J.D., Yashin A.I., Hadley E. (2011) Health and function of participants in the Long Life Family Study: A comparison with other cohorts. *Aging (Albany NY)* 3:63-76.
- Nho R.S., Hergert P. (2014) FoxO3a and disease progression. *World J Biol Chem* 5:346-54.
- Ni Y.G., Wang N., Cao D.J., Sachan N., Morris D.J., Gerard R.D., Kuro O.M., Rothermel B.A., Hill J.A. (2007) FoxO transcription factors activate Akt and attenuate insulin signaling in heart by inhibiting protein phosphatases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:20517-22.
- Nicolette M.L., Lee K., Guo Z., Rani M., Chow J.M., Lee S.E., Paull T.T. (2010) Mre11-Rad50-Xrs2 and Sae2 promote 5' strand resection of DNA double-strand breaks. *Nat Struct Mol Biol* 17:1478-85.
- Nikolopoulou V., Kyriakakis E., Tavernarakis N. (2014) Cellular and molecular longevity pathways: the old and the new. *Trends Endocrinol Metab* 25:212-23.
- Noale M., Limongi F., Scafato E., Maggi S., Crepaldi G. (2012) Longevity and health expectancy in an ageing society: implications for public health in Italy. *Ann Ist Super Sanita* 48:292-9.
- Noordam R., Gunn D.A., Tomlin C.C., Rozing M.P., Maier A.B., Slagboom P.E., Westendorp R.G., van Heemst D., de Craen A.J. (2012) Cortisol serum levels in familial longevity and perceived age: the Leiden longevity study. *Psychoneuroendocrinology* 37:1669-75.
- Nozik-Grayck E., Suliman H.B., Piantadosi C.A. (2005) Extracellular superoxide dismutase. *Int J Biochem Cell Biol* 37:2466-71.

- Nygaard M., Lindahl-Jacobsen R., Soerensen M., Mengel-From J., Andersen-Ranberg K., Jeune B., Vaupel J.W., Tan Q., Christiansen L., Christensen K. (2014) Birth cohort differences in the prevalence of longevity-associated variants in APOE and FOXO3A in Danish long-lived individuals. *Exp Gerontol* 57:41-6.
- Obsil T., Obsilova V. (2008) Structure/function relationships underlying regulation of FOXO transcription factors. *Oncogene* 27:2263-75.
- Oppen J., Vaupel J.W. (2002) Demography. Broken limits to life expectancy. *Science* 296:1029-31.
- Olivier M. (2004) From SNPs to function: the effect of sequence variation on gene expression. Focus on "a survey of genetic and epigenetic variation affecting human gene expression". *Physiol Genomics* 16:182-3.
- Ostan R., Bucci L., Capri M., Salvioli S., Scurti M., Pini E., Monti D., Franceschi C. (2008) Immunosenescence and immunogenetics of human longevity. *Neuroimmunomodulation* 15:224-40.
- Packard C.J. (2003) Triacylglycerol-rich lipoproteins and the generation of small, dense low-density lipoprotein. *Biochem Soc Trans* 31:1066-9.
- Pagani F., Baralle F.E. (2004) Genomic variants in exons and introns: identifying the splicing spoilers. *Nat Rev Genet* 5:389-96.
- Paolisso G., Tagliamonte M.R., Rizzo M.R., Manzella D., Gambardella A., Varricchio M. (1998) Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc* 46:833-8.
- Paolisso G., Ammendola S., Del Buono A., Gambardella A., Riondino M., Tagliamonte M.R., Rizzo M.R., Carella C., Varricchio M. (1997) Serum levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-3 in healthy centenarians: relationship with plasma leptin and lipid concentrations, insulin action, and cognitive function. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2204-9.
- Paolisso G., Barbieri M., Rizzo M.R., Carella C., Rotondi M., Bonafe M., Franceschi C., Rose G., De Benedictis G. (2001) Low insulin resistance and preserved beta-cell function contribute to human longevity but are not associated with TH-INS genes. *Exp Gerontol* 37:149-56.
- Parkes M., Cortes A., van Heel D.A., Brown M.A. (2013) Genetic insights into common pathways and complex relationships among immune-mediated diseases. *Nat Rev Genet* 14:661-73.
- Paula-Gomes S., Goncalves D.A., Baviera A.M., Zanon N.M., Navegantes L.C., Kettelhut I.C. (2013) Insulin suppresses atrophy- and autophagy-related genes in heart tissue and cardiomyocytes through AKT/FOXO signaling. *Horm Metab Res* 45:849-55.
- Pawlikowska L., Hu D., Huntsman S., Sung A., Chu C., Chen J., Joyner A.H., Schork N.J., Hsueh W.C., Reiner A.P., Psaty B.M., Atzmon G., Barzilai N., Cummings S.R., Browner W.S., Kwok P.Y., Ziv E. (2009) Association of common genetic variation in the insulin/IGF1 signaling pathway with human longevity. *Aging Cell* 8:460-72.
- Peila R., Rodriguez B.L., Launer L.J. (2002) Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: The Honolulu-Asia Aging Study. *Diabetes* 51:1256-62.
- Peng S.L. (2008) Foxo in the immune system. *Oncogene* 27:2337-44.
- Perls T. (2002) Genetic and environmental influences on exceptional longevity and the AGE nomogram. *Ann N Y Acad Sci* 959:1-13.
- Perls T.T., Bubrick E., Wager C.G., Vijg J., Kruglyak L. (1998) Siblings of centenarians live longer. *Lancet* 351:1560.
- Perls T.T., Wilmoth J., Levenson R., Drinkwater M., Cohen M., Bogan H., Joyce E., Brewster S., Kunkel L., Puca A. (2002) Life-long sustained mortality advantage of siblings of centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:8442-7.
- Petersen B.S., Spehlmann M.E., Raedler A., Stade B., Thomsen I., Rabionet R., Rosenstiel P., Schreiber S., Franke A. (2014) Whole genome and exome sequencing of monozygotic twins discordant for Crohn's disease. *BMC Genomics* 15:564.
- Piccin D., Morshead C.M. (2010) Potential and pitfalls of stem cell therapy in old age. *Dis Model Mech* 3:421-5.
- Pinkhasov R.M., Shteynshlyuger A., Hakimian P., Lindsay G.K., Samadi D.B., Shabsigh R. (2010) Are men shortchanged on health? Perspective on life expectancy, morbidity, and mortality in men and women in the United States. *Int J Clin Pract* 64:465-74.
- Pollard K.S., Hubisz M.J., Rosenbloom K.R., Siepel A. (2010) Detection of nonneutral substitution rates on mammalian phylogenies. *Genome Res* 20:110-21.
- Posern G., Treisman R. (2006) Actin' together: serum response factor, its cofactors and the link to signal transduction. *Trends Cell Biol* 16:588-96.
- Pradhan A. (2007) Obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes: inflammatory basis of glucose metabolic disorders. *Nutr Rev* 65:S152-6.
- Pritchard J.K., Cox N.J. (2002) The allelic architecture of human disease genes: common disease-common variant...or not? *Hum Mol Genet* 11:2417-23.
- Qiu X., Mistry A., Ammirati M.J., Chrnyk B.A., Clark R.W., Cong Y., Culp J.S., Danley D.E., Freeman T.B., Geoghegan K.F., Griffior M.C., Hawrylik S.J., Hayward C.M., Hensley P., Hoth L.R., Karam G.A., Lira

- M.E., Lloyd D.B., McGrath K.M., Stutzman-Engwall K.J., Subashi A.K., Subashi T.A., Thompson J.F., Wang I.K., Zhao H., Seddon A.P. (2007) Crystal structure of cholesteryl ester transfer protein reveals a long tunnel and four bound lipid molecules. *Nat Struct Mol Biol* 14:106-13.
- Quinlan A.R., Hall I.M. (2010) BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics* 26:841-2.
- R Development Core Team. (2008) *A Language and Environment for Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- Rattan S.I. (2010) Targeting the age-related occurrence, removal, and accumulation of molecular damage by hormesis. *Ann N Y Acad Sci* 1197:28-32.
- Rattan S.I., Demirovic D. (2009) Hormesis can and does work in humans. *Dose Response* 8:58-63.
- Redman L.M., Ravussin E. (2011) Caloric restriction in humans: impact on physiological, psychological, and behavioral outcomes. *Antioxid Redox Signal* 14:275-87.
- Reich D.E., Goldstein D.B. (2001) Detecting association in a case-control study while correcting for population stratification. *Genet Epidemiol* 20:4-16.
- Remondini D., Salvioli S., Francesconi M., Pierini M., Mazzatti D.J., Powell J.R., Zironi I., Bersani F., Castellani G., Franceschi C. (2010) Complex patterns of gene expression in human T cells during in vivo aging. *Mol Biosyst* 6:1983-92.
- Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. (2010) Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic Biol Med* 49:1603-16.
- Ridker P.M., Pare G., Parker A.N., Zee R.Y., Miletich J.P., Chasman D.I. (2009) Polymorphism in the CETP gene region, HDL cholesterol, and risk of future myocardial infarction: Genomewide analysis among 18 245 initially healthy women from the Women's Genome Health Study. *Circ Cardiovasc Genet* 2:26-33.
- Riethoven J.J. (2010) Regulatory regions in DNA: promoters, enhancers, silencers, and insulators. *Methods Mol Biol* 674:33-42.
- Rioux J.D., Silverberg M.S., Daly M.J., Steinhart A.H., McLeod R.S., Griffiths A.M., Green T., Brettin T.S., Stone V., Bull S.B., Bitton A., Williams C.N., Greenberg G.R., Cohen Z., Lander E.S., Hudson T.J., Siminovitch K.A. (2000) Genomewide search in Canadian families with inflammatory bowel disease reveals two novel susceptibility loci. *Am J Hum Genet* 66:1863-70.
- Ristow M., Zarse K. (2010) How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp Gerontol* 45:410-8.
- Rix U., Superti-Furga G. (2009) Target profiling of small molecules by chemical proteomics. *Nat Chem Biol* 5:616-24.
- Rose G., Passarino G., Scornaienchi V., Romeo G., Dato S., Bellizzi D., Mari V., Feraco E., Maletta R., Bruni A., Franceschi C., De Benedictis G. (2007) The mitochondrial DNA control region shows genetically correlated levels of heteroplasmy in leukocytes of centenarians and their offspring. *BMC Genomics* 8:293.
- Roth L.W., Polotsky A.J. (2012) Can we live longer by eating less? A review of caloric restriction and longevity. *Maturitas* 71:315-9.
- Roziang M.P., Westendorp R.G., Frolich M., de Craen A.J., Beekman M., Heijmans B.T., Mooijaart S.P., Blauw G.J., Slagboom P.E., van Heemst D. (2009) Human insulin/IGF-1 and familial longevity at middle age. *Aging (Albany NY)* 1:714-22.
- Roziang M.P., Westendorp R.G., de Craen A.J., Frolich M., Heijmans B.T., Beekman M., Wijnsman C., Mooijaart S.P., Blauw G.J., Slagboom P.E., van Heemst D. (2010) Low serum free triiodothyronine levels mark familial longevity: the Leiden Longevity Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 65:365-8.
- Rudkowska I., Dewailly E., Hegele R.A., Boiteau V., Dube-Linteau A., Abdous B., Giguere Y., Chateau-Degat M.L., Vohl M.C. (2013) Gene-diet interactions on plasma lipid levels in the Inuit population. *Br J Nutr* 109:953-61.
- Rye K.A., Clay M.A., Barter P.J. (1999) Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis* 145:227-38.
- Salih D.A., Brunet A. (2008) FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging. *Curr Opin Cell Biol* 20:126-36.
- Salomon J.A., Wang H., Freeman M.K., Vos T., Flaxman A.D., Lopez A.D., Murray C.J. (2012) Healthy life expectancy for 187 countries, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden Disease Study 2010. *Lancet* 380:2144-62.
- Salvioli S., Capri M., Bucci L., Lanni C., Racchi M., Uberti D., Memo M., Mari D., Govoni S., Franceschi C. (2009) Why do centenarians escape or postpone cancer? The role of IGF-1, inflammation and p53. *Cancer Immunol Immunother* 58:1909-17.
- Salvioli S., Capri M., Santoro A., Raule N., Sevini F., Lukas S., Lanzarini C., Monti D., Passarino G., Rose G., De Benedictis G., Franceschi C. (2008) The impact of mitochondrial DNA on human lifespan: a view from studies on centenarians. *Biotechnol J* 3:740-9.
- Samani A.A., Yakar S., LeRoith D., Brodt P. (2007) The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocr Rev* 28:20-47.

- Sandhofer A., Tatarczyk T., Laimer M., Ritsch A., Kaser S., Paulweber B., Ebenbichler C.F., Patsch J.R. (2008) The Taq1B-variant in the cholesteryl ester-transfer protein gene and the risk of metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)* 16:919-22.
- Sarkar A., Zhang M., Liu S.H., Sarkar S., Brunnicardi F.C., Berger D.H., Belaguli N.S. (2011) Serum response factor expression is enriched in pancreatic beta cells and regulates insulin gene expression. *FASEB J* 25:2592-603.
- Saxena R., Voight B.F., Lyssenko V., Burt N.P., de Bakker P.I., Chen H., Roix J.J., Kathiresan S., Hirschhorn J.N., Daly M.J., Hughes T.E., Groop L., Altshuler D., Almgren P., Florez J.C., Meyer J., Ardlie K., Bengtsson Bostrom K., Isomaa B., Lettre G., Lindblad U., Lyon H.N., Melander O., Newton-Cheh C., Nilsson P., Orho-Melander M., Rastam L., Speliotes E.K., Taskinen M.R., Tuomi T., Guiducci C., Berglund A., Carlson J., Gianniny L., Hackett R., Hall L., Holmkvist J., Laurila E., Sjogren M., Sterner M., Surti A., Svensson M., Tewhey R., Blumensiel B., Parkin M., Defelice M., Barry R., Brodeur W., Camarata J., Chia N., Fava M., Gibbons J., Handsaker B., Healy C., Nguyen K., Gates C., Sougnez C., Gage D., Nizzari M., Gabriel S.B., Chirn G.W., Ma Q., Parikh H., Richardson D., Ricke D., Purcell S. (2007) Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 316:1331-6.
- Schachter F., Faure-Delanef L., Guenot F., Rouger H., Froguel P., Lesueur-Ginot L., Cohen D. (1994) Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nat Genet* 6:29-32.
- Schierer A., Been L.F., Ralhan S., Wander G.S., Aston C.E., Sanghera D.K. (2012) Genetic variation in cholesterol ester transfer protein, serum CETP activity, and coronary artery disease risk in Asian Indian diabetic cohort. *Pharmacogenet Genomics* 22:95-104.
- Schneider M.V. (2013) Defining systems biology: a brief overview of the term and field. *Methods Mol Biol* 1021:1-11.
- Schnitzler F., Friedrich M., Wolf C., Angelberger M., Diegelmann J., Olszak T., Beigel F., Tillack C., Stallhofer J., Goke B., Glas J., Lohse P., Brand S. (2014) The NOD2 p.Leu1007fsX1008 Mutation (rs2066847) Is a Stronger Predictor of the Clinical Course of Crohn's Disease than the FOXO3A Intron Variant rs12212067. *PLoS One* 9:e108503.
- Schoenhofen E.A., Wyszynski D.F., Andersen S., Pennington J., Young R., Terry D.F., Perls T.T. (2006) Characteristics of 32 supercentenarians. *J Am Geriatr Soc* 54:1237-40.
- Schork N.J., Murray S.S., Frazer K.A., Topol E.J. (2009) Common vs. rare allele hypotheses for complex diseases. *Curr Opin Genet Dev* 19:212-9.
- Schratt G., Philippar U., Hockemeyer D., Schwarz H., Alberti S., Nordheim A. (2004) SRF regulates Bcl-2 expression and promotes cell survival during murine embryonic development. *EMBO J* 23:1834-44.
- Schwarz J.M., Rodelsperger C., Schuelke M., Seelow D. (2010) MutationTaster evaluates disease-causing potential of sequence alterations. *Nat Methods* 7:575-6.
- Sebastiani P., Perls T.T. (2012) The genetics of extreme longevity: lessons from the new England centenarian study. *Front Genet* 3:277.
- Sebastiani P., Sun F.X., Andersen S.L., Lee J.H., Wojczynski M.K., Sanders J.L., Yashin A., Newman A.B., Perls T.T. (2013) Families Enriched for Exceptional Longevity also have Increased Health-Span: Findings from the Long Life Family Study. *Front Public Health* 1:38.
- Sebastiani P., Solovieff N., Puca A., Hartley S.W., Melista E., Andersen S., Dworkis D.A., Wilk J.B., Myers R.H., Steinberg M.H., Montano M., Baldwin C.T., Perls T.T. (2010) Genetic signatures of exceptional longevity in humans. *Science* 2010.
- Sebastiani P., Riva A., Montano M., Pham P., Torkamani A., Scherba E., Benson G., Milton J.N., Baldwin C.T., Andersen S., Schork N.J., Steinberg M.H., Perls T.T. (2011) Whole genome sequences of a male and female supercentenarian, ages greater than 114 years. *Front Genet* 2:90.
- Sebastiani P., Solovieff N., Dewan A.T., Walsh K.M., Puca A., Hartley S.W., Melista E., Andersen S., Dworkis D.A., Wilk J.B., Myers R.H., Steinberg M.H., Montano M., Baldwin C.T., Hoh J., Perls T.T. (2012) Genetic signatures of exceptional longevity in humans. *PLoS One* 7:e29848.
- Sela U., Dayan M., Hershkoviz R., Cahalon L., Lider O., Mozes E. (2006) The negative regulators Foxj1 and Foxo3a are up-regulated by a peptide that inhibits systemic lupus erythematosus-associated T cell responses. *Eur J Immunol* 36:2971-80.
- Seppet E., Paasuke M., Conte M., Capri M., Franceschi C. (2011) Ethical aspects of aging research. *Biogerontology* 12:491-502.
- Sham P.C., Purcell S.M. (2014) Statistical power and significance testing in large-scale genetic studies. *Nat Rev Genet* 15:335-46.
- Sheffield N.C., Thurman R.E., Song L., Safi A., Stamatoyannopoulos J.A., Lenhard B., Crawford G.E., Furey T.S. (2013) Patterns of regulatory activity across diverse human cell types predict tissue identity, transcription factor binding, and long-range interactions. *Genome Res* 23:777-88.

- Shendure J., Porreca G.J., Reppas N.B., Lin X., McCutcheon J.P., Rosenbaum A.M., Wang M.D., Zhang K., Mitra R.D., Church G.M. (2005) Accurate multiplex polony sequencing of an evolved bacterial genome. *Science* 309:1728-32.
- Shimoda-Matsubayashi S., Matsumine H., Kobayashi T., Nakagawa-Hattori Y., Shimizu Y., Mizuno Y. (1996) Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 226:561-5.
- Singh-Manoux A., Gueguen A., Ferrie J., Shipley M., Martikainen P., Bonenfant S., Goldberg M., Marmot M. (2008) Gender differences in the association between morbidity and mortality among middle-aged men and women. *Am J Public Health* 98:2251-7.
- Sinnott D., Beaulieu P., Belanger H., Lefebvre J.F., Langlois S., Theberge M.C., Drouin S., Zotti C., Hudson T.J., Labuda D. (2006) Detection and characterization of DNA variants in the promoter regions of hundreds of human disease candidate genes. *Genomics* 87:704-10.
- Skytthe A., Pedersen N.L., Kaprio J., Stazi M.A., Hjelmborg J.V., Iachine I., Vaupel J.W., Christensen K. (2003) Longevity studies in GenomEUtwin. *Twin Res* 6:448-54.
- Slimani N., Fahey M., Welch A.A., Wirfalt E., Stripp C., Bergstrom E., Linseisen J., Schulze M.B., Bamia C., Chloptsios Y., Veglia F., Panico S., Bueno-de-Mesquita H.B., Ocke M.C., Brustad M., Lund E., Gonzalez C.A., Barcos A., Berglund G., Winkvist A., Mulligan A., Appleby P., Overvad K., Tjonneland A., Clavel-Chapelon F., Kesse E., Ferrari P., Van Staveren W.A., Riboli E. (2002) Diversity of dietary patterns observed in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) project. *Public Health Nutr* 5:1311-28.
- Smith E.N., Chen W., Kahonen M., Kettunen J., Lehtimaki T., Peltonen L., Raitakari O.T., Salem R.M., Schork N.J., Shaw M., Srinivasan S.R., Topol E.J., Viikari J.S., Berenson G.S., Murray S.S. (2010) Longitudinal genome-wide association of cardiovascular disease risk factors in the Bogalusa heart study. *PLoS Genet* 6:e1001094.
- Soerensen M., Christensen K., Stevnsner T., Christiansen L. (2009) The Mn-superoxide dismutase single nucleotide polymorphism rs4880 and the glutathione peroxidase 1 single nucleotide polymorphism rs1050450 are associated with aging and longevity in the oldest old. *Mech Ageing Dev* 130:308-14.
- Soerensen M., Dato S., Christensen K., McGue M., Stevnsner T., Bohr V.A., Christiansen L. (2010) Replication of an association of variation in the FOXO3A gene with human longevity using both case-control and longitudinal data. *Aging Cell* 9:1010-7.
- Soerensen M., Dato S., Tan Q., Thinggaard M., Kleindorp R., Beekman M., Suchiman H.E., Jacobsen R., McGue M., Stevnsner T., Bohr V.A., de Craen A.J., Westendorp R.G., Schreiber S., Slagboom P.E., Nebel A., Vaupel J.W., Christensen K., Christiansen L. (2013) Evidence from case-control and longitudinal studies supports associations of genetic variation in APOE, CETP, and IL6 with human longevity. *Age (Dordr)* 35:487-500.
- Soon W.W., Hariharan M., Snyder M.P. (2013) High-throughput sequencing for biology and medicine. *Mol Syst Biol* 9:640.
- Statistisches-Bundesamt (2013). <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Bevoelkerung/Sterbefaelle/Tabellen/LebenserwartungDeutschland.html>
- Steffens M., Lamina C., Illig T., Bettecken T., Vogler R., Entz P., Suk E.K., Toliat M.R., Klopp N., Caliebe A., König I.R., Kohler K., Ludemann J., Diaz Lacava A., Fimmers R., Lichtner P., Ziegler A., Wolf A., Krawczak M., Nürnberg P., Hampe J., Schreiber S., Meitinger T., Wichmann H.E., Roeder K., Wienker T.F., Baur M.P. (2006) SNP-based analysis of genetic substructure in the German population. *Hum Hered* 62:20-9.
- Stepanova M., Tiazhelova T., Skoblov M., Baranova A. (2006) Potential regulatory SNPs in promoters of human genes: a systematic approach. *Mol Cell Probes* 20:348-58.
- Stessman J., Maaravi Y., Hammerman-Rozenberg R., Cohen A., Nemanov L., Gritsenko I., Gruberman N., Ebstein R.P. (2005) Candidate genes associated with ageing and life expectancy in the Jerusalem longitudinal study. *Mech Ageing Dev* 126:333-9.
- Strindhall J., Nilsson B.O., Lofgren S., Ernerudh J., Pawelec G., Johansson B., Wikby A. (2007) No Immune Risk Profile among individuals who reach 100 years of age: findings from the Swedish NONA immune longitudinal study. *Exp Gerontol* 42:753-61.
- Suh Y., Atzmon G., Cho M.O., Hwang D., Liu B., Leahy D.J., Barzilai N., Cohen P. (2008) Functionally significant insulin-like growth factor I receptor mutations in centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:3438-42.
- Takeuchi F., Isono M., Katsuya T., Yokota M., Yamamoto K., Nabika T., Shimokawa K., Nakashima E., Sugiyama T., Rakugi H., Yamaguchi S., Ogihara T., Yamori Y., Kato N. (2012) Association of genetic variants influencing lipid levels with coronary artery disease in Japanese individuals. *PLoS One* 7:e46385.

- Tall A.R. (1995) Plasma cholesteryl ester transfer protein and high-density lipoproteins: new insights from molecular genetic studies. *J Intern Med* 237:5-12.
- Tan Q., Zhao J.H., Zhang D., Kruse T.A., Christensen K. (2008) Power for genetic association study of human longevity using the case-control design. *Am J Epidemiol* 168:890-6.
- Tan Q., De Benedictis G., Yashi A.I., Bonafe M., DeLuca M., Valensin S., Vaupel J.W., Franceschi C. (2001) Measuring the genetic influence in modulating the human life span: gene-environment interaction and the sex-specific genetic effect. *Biogerontology* 2:141-53.
- Tanaka M., Gong J.S., Zhang J., Yoneda M., Yagi K. (1998) Mitochondrial genotype associated with longevity. *Lancet* 351:185-6.
- Terry D.F., Nolan V.G., Andersen S.L., Perls T.T., Cawthon R. (2008) Association of longer telomeres with better health in centenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63:809-12.
- Terry D.F., Wilcox M.A., McCormick M.A., Pennington J.Y., Schoenhofen E.A., Andersen S.L., Perls T.T. (2004) Lower all-cause, cardiovascular, and cancer mortality in centenarians' offspring. *J Am Geriatr Soc* 52:2074-6.
- Thomas-Chollier M., Hufton A., Heinig M., O'Keeffe S., Masri N.E., Roeder H.G., Manke T., Vingron M. (2011) Transcription factor binding predictions using TRAP for the analysis of ChIP-seq data and regulatory SNPs. *Nat Protoc* 6:1860-9.
- Thompson H.J., Voss J.G. (2009) Health-and disease-related biomarkers in aging research. *Res Gerontol Nurs* 2:137-48.
- Thurman R.E., Rynes E., Humbert R., Vierstra J., Maurano M.T., Haugen E., Sheffield N.C., Stergachis A.B., Wang H., Vernot B., Garg K., John S., Sandstrom R., Bates D., Boatman L., Canfield T.K., Diegel M., Dunn D., Ebersol A.K., Frum T., Giste E., Johnson A.K., Johnson E.M., Kutayavin T., Lajoie B., Lee B.K., Lee K., London D., Lotakis D., Neph S., Neri F., Nguyen E.D., Qu H., Reynolds A.P., Roach V., Safi A., Sanchez M.E., Sanyal A., Shafer A., Simon J.M., Song L., Vong S., Weaver M., Yan Y., Zhang Z., Lenhard B., Tewari M., Dorschner M.O., Hansen R.S., Navas P.A., Stamatoyannopoulos G., Iyer V.R., Lieb J.D., Sunyaev S.R., Akey J.M., Sabo P.J., Kaul R., Furey T.S., Dekker J., Crawford G.E., Stamatoyannopoulos J.A. (2012) The accessible chromatin landscape of the human genome. *Nature* 489:75-82.
- Tian C., Fang S., Du X., Jia C. (2011) Association of the C47T polymorphism in SOD2 with diabetes mellitus and diabetic microvascular complications: a meta-analysis. *Diabetologia* 54:803-11.
- Tomita K., Matsuura A., Caspari T., Carr A.M., Akamatsu Y., Iwasaki H., Mizuno K., Ohta K., Uritani M., Ushimaru T., Yoshinaga K., Ueno M. (2003) Competition between the Rad50 complex and the Ku heterodimer reveals a role for Exo1 in processing double-strand breaks but not telomeres. *Mol Cell Biol* 23:5186-97.
- Topol E.J. (2014) Individualized medicine from prewomb to tomb. *Cell* 157:241-53.
- Torgovnick A., Schiavi A., Maglioni S., Ventura N. (2013) Healthy aging: what can we learn from *Caenorhabditis elegans*? *Z Gerontol Geriatr* 46:623-8.
- Trynka G., Hunt K.A., Bockett N.A., Romanos J., Mistry V., Szperl A., Bakker S.F., Bardella M.T., Bhaw-Rosun L., Castillejo G., de la Concha E.G., de Almeida R.C., Dias K.R., van Diemen C.C., Dubois P.C., Duerr R.H., Edkins S., Franke L., Fransen K., Gutierrez J., Heap G.A., Hrdlickova B., Hunt S., Plaza Izurieta L., Izzo V., Joosten L.A., Langford C., Mazzilli M.C., Mein C.A., Midah V., Mitrovic M., Mora B., Morelli M., Nutland S., Nunez C., Onengut-Gumuscus S., Pearce K., Platteel M., Polanco I., Potter S., Ribes-Koninckx C., Ricano-Ponce I., Rich S.S., Rybak A., Santiago J.L., Senapati S., Sood A., Szajewska H., Troncone R., Varade J., Wallace C., Wolters V.M., Zhernakova A., Thelma B.K., Cukrowska B., Urcelay E., Bilbao J.R., Mearin M.L., Barisani D., Barrett J.C., Plagnol V., Deloukas P., Wijmenga C., van Heel D.A. (2011) Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet* 43:1193-201.
- Twyman R. (2003) Gene structure. http://genome.wellcome.ac.uk/doc_WTD020755.html
- Vaarhorst A.A., Beekman M., Suchiman E.H., van Heemst D., Houwing-Duistermaat J.J., Westendorp R.G., Slagboom P.E., Heijmans B.T. (2011) Lipid metabolism in long-lived families: the Leiden Longevity Study. *Age (Dordr)* 33:219-27.
- Valdes A.M., Glass D., Spector T.D. (2013) Omics technologies and the study of human ageing. *Nat Rev Genet* 14:601-7.
- van Heemst D. (2010) Insulin, IGF-1 and longevity. *Aging Dis* 1:147-57.
- van Heemst D., Beekman M., Mooijaart S.P., Heijmans B.T., Brandt B.W., Zwaan B.J., Slagboom P.E., Westendorp R.G. (2005) Reduced insulin/IGF-1 signalling and human longevity. *Aging Cell* 4:79-85.
- Vasto S., Candore G., Balistreri C.R., Caruso M., Colonna-Romano G., Grimaldi M.P., Listi F., Nuzzo D., Lio D., Caruso C. (2007) Inflammatory networks in ageing, age-related diseases and longevity. *Mech Ageing Dev* 128:83-91.
- Vaupel J.W. (1997) The remarkable improvements in survival at older ages. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 352:1799-804.

- Vaupel J.W., Carey J.R., Christensen K., Johnson T.E., Yashin A.I., Holm N.V., Iachine I.A., Kannisto V., Khazaeli A.A., Liedo P., Longo V.D., Zeng Y., Manton K.G., Curtsinger J.W. (1998) Biodemographic trajectories of longevity. *Science* 280:855-60.
- Vergeer M., Holleboom A.G., Kastelein J.J., Kuivenhoven J.A. (2010) The HDL hypothesis: does high-density lipoprotein protect from atherosclerosis? *J Lipid Res* 51:2058-73.
- Verges B. (2009) Lipid modification in type 2 diabetes: the role of LDL and HDL. *Fundam Clin Pharmacol* 23:681-5.
- Vitale G., Brughts M.P., Ogliari G., Castaldi D., Fatti L.M., Varewijck A.J., Lamberts S.W., Monti D., Bucci L., Cevenini E., Cavagnini F., Franceschi C., Hofland L.J., Mari D., Janssen J. (2012) Low circulating IGF-I bioactivity is associated with human longevity: findings in centenarians' offspring. *Aging (Albany NY)* 4:580-9.
- Walker G., Houthoofd K., Vanfleteren J.R., Gems D. (2005) Dietary restriction in *C. elegans*: from rate-of-living effects to nutrient sensing pathways. *Mech Ageing Dev* 126:929-37.
- Wang D., Huang J. (2006) Detecting linkage disequilibrium in the presence of locus heterogeneity. *Ann Hum Genet* 70:397-409.
- Wang F., Nguyen M., Qin F.X., Tong Q. (2007) SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction. *Aging Cell* 6:505-14.
- Wang G.S., Cooper T.A. (2007) Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery. *Nat Rev Genet* 8:749-61.
- Wang J., Zhuang J., Iyer S., Lin X., Whitfield T.W., Greven M.C., Pierce B.G., Dong X., Kundaje A., Cheng Y., Rando O.J., Birney E., Myers R.M., Noble W.S., Snyder M., Weng Z. (2012) Sequence features and chromatin structure around the genomic regions bound by 119 human transcription factors. *Genome Res* 22:1798-812.
- Ward L.D., Kellis M. (2012) HaploReg: a resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants. *Nucleic Acids Res* 40:D930-4.
- Warren M.W., Hynan L.S., Weiner M.F. (2012) Lipids and adipokines as risk factors for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 29:151-7.
- Watkins S.K., Zhu Z., Riboldi E., Shafer-Weaver K.A., Stagliano K.E., Sklavos M.M., Ambs S., Yagita H., Hurwitz A.A. (2011) FOXO3 programs tumor-associated DCs to become tolerogenic in human and murine prostate cancer. *J Clin Invest* 121:1361-72.
- Webb A.E., Brunet A. (2014) FOXO transcription factors: key regulators of cellular quality control. *Trends Biochem Sci* 39:159-69.
- Weckx S., Del-Favero J., Rademakers R., Claes L., Cruts M., De Jonghe P., Van Broeckhoven C., De Rijk P. (2005) novoSNP, a novel computational tool for sequence variation discovery. *Genome Res* 15:436-42.
- Weidinger S., Gieger C., Rodriguez E., Baurecht H., Mempel M., Klopp N., Gohlke H., Wagenpfeil S., Ollert M., Ring J., Behrendt H., Heinrich J., Novak N., Bieber T., Kramer U., Berdel D., von Berg A., Bauer C.P., Herbarth O., Koletzko S., Prokisch H., Mehta D., Meitinger T., Depner M., von Mutius E., Liang L., Moffatt M., Cookson W., Kabesch M., Wichmann H.E., Illig T. (2008) Genome-wide scan on total serum IgE levels identifies FCER1A as novel susceptibility locus. *PLoS Genet* 4:e1000166.
- Weon B.M., Je J.H. (2009) Theoretical estimation of maximum human lifespan. *Biogerontology* 10:65-71.
- West G.B., Bergman A. (2009) Toward a systems biology framework for understanding aging and health span. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64:205-8.
- Westendorp R.G., van Heemst D., Rozing M.P., Frolich M., Mooijaart S.P., Blauw G.J., Beekman M., Heijmans B.T., de Craen A.J., Slagboom P.E. (2009) Nonagenarian siblings and their offspring display lower risk of mortality and morbidity than sporadic nonagenarians: The Leiden Longevity Study. *J Am Geriatr Soc* 57:1634-7.
- Westra H.J., Peters M.J., Esko T., Yaghootkar H., Schurmann C., Kettunen J., Christiansen M.W., Fairfax B.P., Schramm K., Powell J.E., Zernakova A., Zernakova D.V., Veldink J.H., Van den Berg L.H., Karjalainen J., Withoff S., Uitterlinden A.G., Hofman A., Rivadeneira F., t Hoen P.A., Reinmaa E., Fischer K., Nelis M., Milani L., Melzer D., Ferrucci L., Singleton A.B., Hernandez D.G., Nalls M.A., Homuth G., Nauck M., Radke D., Volker U., Perola M., Salomaa V., Brody J., Suchy-Dacey A., Gharib S.A., Enquobahrie D.A., Lumley T., Montgomery G.W., Makino S., Prokisch H., Herder C., Roden M., Grallert H., Meitinger T., Strauch K., Li Y., Jansen R.C., Visscher P.M., Knight J.C., Psaty B.M., Ripatti S., Teumer A., Frayling T.M., Metspalu A., van Meurs J.B., Franke L. (2013) Systematic identification of trans eQTLs as putative drivers of known disease associations. *Nat Genet* 45:1238-43.
- WHO (2014). http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/life_tables/situation_trends/en/
- WHO (2012). http://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/life_tables/hale/en/
- Wiener H.W., Perry R.T., Chen Z., Harrell L.E., Go R.C. (2007) A polymorphism in SOD2 is associated with development of Alzheimer's disease. *Genes Brain Behav* 6:770-5.

- Wijsman C.A., Rozing M.P., Streefland T.C., le Cessie S., Mooijaart S.P., Slagboom P.E., Westendorp R.G., Pijl H., van Heemst D. (2011) Familial longevity is marked by enhanced insulin sensitivity. *Aging Cell* 10:114-21.
- Willcox B.J., Willcox D.C., He Q., Curb J.D., Suzuki M. (2006) Siblings of Okinawan centenarians share lifelong mortality advantages. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 61:345-54.
- Willcox B.J., Willcox D.C., Todoriki H., Fujiyoshi A., Yano K., He Q., Curb J.D., Suzuki M. (2007) Caloric restriction, the traditional Okinawan diet, and healthy aging: the diet of the world's longest-lived people and its potential impact on morbidity and life span. *Ann N Y Acad Sci* 1114:434-55.
- Willcox B.J., Donlon T.A., He Q., Chen R., Grove J.S., Yano K., Masaki K.H., Willcox D.C., Rodriguez B., Curb J.D. (2008a) FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:13987-92.
- Willcox D.C., Willcox B.J., Wang N.C., He Q., Rosenbaum M., Suzuki M. (2008b) Life at the extreme limit: phenotypic characteristics of supercentenarians in Okinawa. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63:1201-8.
- Willer C.J., Sanna S., Jackson A.U., Scuteri A., Bonnycastle L.L., Clarke R., Heath S.C., Timpson N.J., Najjar S.S., Stringham H.M., Strait J., Duren W.L., Maschio A., Busonero F., Mulas A., Albai G., Swift A.J., Morken M.A., Narisu N., Bennett D., Parish S., Shen H., Galan P., Meneton P., Herberg S., Zelenika D., Chen W.M., Li Y., Scott L.J., Scheet P.A., Sundvall J., Watanabe R.M., Nagaraja R., Ebrahim S., Lawlor D.A., Ben-Shlomo Y., Davey-Smith G., Shuldiner A.R., Collins R., Bergman R.N., Uda M., Tuomilehto J., Cao A., Collins F.S., Lakatta E., Lathrop G.M., Boehnke M., Schlessinger D., Mohlke K.L., Abecasis G.R. (2008) Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet* 40:161-9.
- Williams G.C. (1957) Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* 11:398-411.
- Woods S.C., Lutz T.A., Geary N., Langhans W. (2006) Pancreatic signals controlling food intake; insulin, glucagon and amylin. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361:1219-35.
- Wu H., Caffo B., Jaffee H.A., Irizarry R.A., Feinberg A.P. (2010) Redefining CpG islands using hidden Markov models. *Biostatistics* 11:499-514.
- Wu J.J., Liu J., Chen E.B., Wang J.J., Cao L., Narayan N., Fergusson M.M., Rovira, II, Allen M., Springer D.A., Lago C.U., Zhang S., DuBois W., Ward T., deCabo R., Gavrilova O., Mock B., Finkel T. (2013) Increased mammalian lifespan and a segmental and tissue-specific slowing of aging after genetic reduction of mTOR expression. *Cell Rep* 4:913-20.
- Xia N., Strand S., Schlufner F., Siuda D., Reifenberg G., Kleinert H., Forstermann U., Li H. (2013) Role of SIRT1 and FOXO factors in eNOS transcriptional activation by resveratrol. *Nitric Oxide* 32:29-35.
- Xiao X., Wang Z., Jang M., Burge C.B. (2007) Coevolutionary networks of splicing cis-regulatory elements. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:18583-8.
- Xu Z., Taylor J.A. (2009) SNPinfo: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies. *Nucleic Acids Res* 37:W600-5.
- Yang J.O., Kim W.Y., Bhak J. (2009) ssSNPtarget: genome-wide splice-site Single Nucleotide Polymorphism database. *Hum Mutat* 30:E1010-20.
- Yang T.P., Beazley C., Montgomery S.B., Dimas A.S., Gutierrez-Arcelus M., Stranger B.E., Deloukas P., Dermitzakis E.T. (2010) Genevar: a database and Java application for the analysis and visualization of SNP-gene associations in eQTL studies. *Bioinformatics* 26:2474-6.
- Yates C.M., Sternberg M.J. (2013) The effects of non-synonymous single nucleotide polymorphisms (nsSNPs) on protein-protein interactions. *J Mol Biol* 425:3949-63.
- Ye K., Beekman M., Lameijer E.W., Zhang Y., Moed M.H., van den Akker E.B., Deelen J., Houwing-Duistermaat J.J., Kremer D., Anvar S.Y., Laros J.F., Jones D., Raine K., Blackburne B., Potluri S., Long Q., Guryev V., van der Breggen R., Westendorp R.G., t Hoen P.A., den Dunnen J., van Ommen G.J., Willemsen G., Pitts S.J., Cox D.R., Ning Z., Boomsma D.I., Slagboom P.E. (2013) Aging as accelerated accumulation of somatic variants: whole-genome sequencing of centenarian and middle-aged monozygotic twin pairs. *Twin Res Hum Genet* 16:1026-32.
- Zarse K., Schmeisser S., Groth M., Priebe S., Beuster G., Kuhlow D., Guthke R., Platzer M., Kahn C.R., Ristow M. (2012) Impaired insulin/IGF1 signaling extends life span by promoting mitochondrial L-proline catabolism to induce a transient ROS signal. *Cell Metab* 15:451-65.
- Zhang H., Hu J., Recce M., Tian B. (2005) PolyA_DB: a database for mammalian mRNA polyadenylation. *Nucleic Acids Res* 33:D116-20.
- Zhang J., Liu F. (2014) Tissue-specific insulin signaling in the regulation of metabolism and aging. *IUBMB Life* 66:485-95.
- Zhang J., Asin-Cayuela J., Fish J., Michikawa Y., Bonafe M., Olivieri F., Passarino G., De Benedictis G., Franceschi C., Attardi G. (2003) Strikingly higher frequency in centenarians and twins of mtDNA mutation causing remodeling of replication origin in leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1116-21.

- Zhou S.F., Di Y.M., Chan E., Du Y.M., Chow V.D., Xue C.C., Lai X., Wang J.C., Li C.G., Tian M., Duan W. (2008) Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab* 9:738-84.
- Ziegler A., König I.R. (2010) *A Statistical Approach to Genetic Epidemiology* WILEY-VCJ Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name, Vorname: Gentschew, Liljana
Geburtsdatum: 03.05.1986
Geburtsort: Schkeuditz
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulischer Werdegang:

1992 – 1996 Diesterweg-Grundschule, Delitzsch
1996 – 2004 Ehrenberg-Gymnasium, Delitzsch
07/2004 Abitur (Note 1,9)

Studium:

2005 – 2008 Bachelorstudium der Ökotoxikologie an der Hochschule Anhalt,
Bernburg
10/2008 Bachelor of Science (Note 1,4)
2008 – 2011 Masterstudium der Ökotoxikologie an der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
07/2010 – 07/2011 Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der
Universität in Auckland (Neuseeland) im Rahmen der Masterarbeit
Thema der Arbeit: „*The role of selenoproteins in inflammatory bowel
disease – chances and challenges in identifying SNPs associated with
Crohn’s disease*“
08/2011 Master of Science (Note 1,5)
Seit 09/2011 Doktorandin am Institut für Klinische Molekularbiologie, Kiel
Thema der Arbeit: „*Genetische Untersuchung entzündungsrelevanter
Altersgene*“

Publikationen:

1. **Gentschew L**, Flachsbart F, Kleindorp R, Badarinarayan N, Schreiber S, Nebel A. Polymorphisms in the superoxidase dismutase genes reveal no association with human longevity in Germans: a case-control association study. *Biogerontology*. 2013 Dec;14(6):719-27. doi: 10.1007/s10522-013-9470-3. Epub 2013 Oct 22.
2. **Gentschew L**, Bishop KS, Han DY, Morgan AR, Fraser AG, Lam WJ, Karunasinghe N, Campbell B, Ferguson LR. Selenium, selenoprotein genes and Crohn's disease in a case-control population from Auckland, New Zealand. *Nutrients*. 2012 Sep;4(9):1247-59. doi: 10.3390/nu4091247. Epub 2012 Sep 7.
3. Flachsbart F, Möller M, Däumer C, **Gentschew L**, Kleindorp R, Krawczak M, Caliebe A, Schreiber S, Nebel A. Genetic investigation of FOXO3A requires special attention due to sequence homology with FOXO3B. *Eur J Hum Genet*. 2013 Feb;21(2):240-2. doi: 10.1038/ejhg.2012.83. Epub 2012 May 16.
4. **Gentschew L**, Ferguson LR. Role of nutrition and microbiota in susceptibility to inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res*. 2012 Apr;56(4):524-35. doi: 10.1002/mnfr.201100630. Review.

11 Danksagung

Ich möchte mich bei allen bedanken, ohne die eine Entstehung und erfolgreiches Abschließen dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Mein besonderer Dank gilt daher...

Prof. Dr. Stefan Schreiber

für die Möglichkeit, an einem interessanten und anspruchsvollen Forschungsprojekt unter exzellenten Arbeitsbedingungen am Institut für Klinische Molekularbiologie (IKMB) arbeiten zu können.

Prof. Dr. Manuela Dittmar

für die Betreuung und das Interesse an meiner Arbeit sowie die Möglichkeit, bei Fragen stets wertvolle Anregungen und Hinweise zu bekommen.

Prof. Dr. Almut Nebel

für die exzellente fachliche Unterstützung und ihr großes Engagement bei der Umsetzung und dem Lösen von Fragestellungen jeglicher Art, die zum erfolgreichen Verlauf dieser Arbeit maßgeblich beigetragen haben. Ganz besonders möchte ich mich auch für ihr Interesse und den Einsatz bei der intensiven und kritischen Durchsicht des Manuskripts bedanken.

PD Dr. Friederike Flachsbar

für die ausgezeichnete Betreuung während der gesamten Promotionszeit sowie die stetige fachliche und mentale Unterstützung. Ein ganz besonderer Dank auch dafür, dass sie sich immer die Zeit dafür genommen hat, die im Rahmen der Arbeit entstandenen Ergebnisse ausführlich zu diskutieren und sehr gute Hilfestellungen beim Lösen von aufgetretenen und unvorhersehbaren Problemen zu geben. Ein großes Dankeschön auch für die sehr ausführliche und kritische Durchsicht von Präsentationen, Forschungsberichten und Manuskripten. Ihr außerordentliches Engagement und Interesse für mein Arbeitsthema haben stets dazu beigetragen, sehr gute Ergebnisse zu erzielen und auch bei schwierigen Themen und negativen Forschungsbefunden mich jederzeit dazu zu motivieren, weitere alternative Wege und Denkansätze zu verfolgen.

Dr. Amke Caliebe

für ihren kompetenten und fachlichen Rat bei der Lösung von statistischen Fragestellungen sowie der sorgfältigen Analyse der generierten Daten.

Prof. Dr. Philip Rosenstiel, Prof. Dr. Andre Franke

für den fachlichen Rat sowie auch für die Bereitstellung von Infrastruktur und Probenmaterial, wodurch die umfassende Durchführung von verschiedenen Studien ermöglicht wurde.

Carolin Knecht, Nandini Badarinarayan, Geetha Venkatesh

für die Generierung von umfassenden Datensätzen, die sich für die Arbeit als äußerst hilfreich erwiesen und diese vervollständigt haben. Dabei möchte ich mich auch für den interessanten Austausch und aufschlussreichen Diskussionen im Rahmen unserer Gruppenmeetings bedanken.

Marlene Jentzsch, Anne Luzius

für die exzellente Unterstützung, Hilfestellung und Geduld bei der Durchführung von zellbiologischen Experimenten. Dabei möchte ich mich auch für eure Hilfsbereitschaft bedanken und für die Möglichkeit, dass ich mit meinen Fragen stets zu euch kommen konnte.

Prof. Dr. Susanne Sebens, Prof. Dr. Alexander Arlt, Prof. Dr. Matthias Laudes, Frauke Grohmann, Tanja Wesse, Sanaz Sedghpour Sabet, Ilona Urbach, Anja Eggert, Wolfgang Albrecht, Sandra Greve, Tanja Henke, Stefanie Arndt, Dr. Sandra May, Tomek Jedrzejczak, Tanja Klostermeier, Sabine Kock, Dr. Robert Häsler, Dorina Ölsner, Dr. Michael Forster, Dr. ElSharawy, Lars Krämer, Dr. Andreas Till

für die stetige und freundliche Unterstützung bei der Generierung von Daten im Labor. Einen besonderen Dank auch für die exzellente Hilfestellung bei technischen oder fachlichen Fragen.

David Ellinghaus

für die genaue und sorgfältige Analyse der generierten Daten im Rahmen des Immunochip-Projekts für die Aging-Kohorte.

Dr. Christiane Wolf-Schwerin, Angelina Offt, Natalie Tepling

für die stetige und freundliche Unterstützung bei allen administrativen und organisatorischen Fragen.

Mette Soerensen, Marianne Nygaard, Lene Christiansen, Kaare Christensen, Hélène Blanchè

für die hervorragende Zusammenarbeit und Kooperation im Rahmen der Replikationsstudien sowie für den interessanten Austausch über aktuelle Inhalte und Themen in der Langlebigkeitsforschung.

Sanaz Sedghpour Sabet, Alexandra Zimmermann, Benjamin Schmid, Gregor Bochenek, Marcel Nutsua, Joanna Tucher, Jana Schlenk

für viele tolle und unterhaltsame Stunden sowohl im Büro als auch außerhalb der Arbeit, die die Zeit während der gesamten Promotion bereichert und auch in stressigen Phasen dazu beigetragen haben neue Energie zu tanken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Mutter, die immer an mich geglaubt und mich stets unterstützt hat und dabei auch Verständnis dafür gezeigt hat, dass ich sie zu selten besucht habe. Bei meiner Familie aus „Meck Pomm“ möchte ich mich ganz besonders dafür bedanken, dass ich immer auf euch zählen kann!

Jutta, danke, dass du mich schon seit so vielen Jahren begleitest und für mich da bist, auch wenn wir uns viel zu selten sehen.

Julia, danke für die schöne und erlebnisreiche Zeit außerhalb der Arbeit und ein großes Dankeschön auch dafür, dass du immer ein Ohr für mich hast!

Mathias, danke dafür, dass du immer für mich da bist und du mir auch in schwierigen Phasen stets Mut machst. Ich möchte mich auch dafür bedanken, dass du mir neue Sichtweisen eröffnet hast, die mich dazu motiviert haben, neue Wege zu gehen. Ich bin sehr froh dich an meiner Seite zu haben!

12 Erklärung

Hiermit versichere ich, dass diese Dissertation - abgesehen von der Beratung durch die Betreuer - nach Inhalt und Form das Resultat meiner eigenen Arbeit ist. Abgesehen vom Rat meiner akademischen Lehrer sind sämtliche Quellen und Kooperationspartner in der Arbeit aufgeführt. Teile der Ergebnisse dieser Dissertation sind bereits im *European Journal of Human Genetics* und *Biogerontology* veröffentlicht worden. Diese Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden und hat weder im Ganzen noch zum Teil an anderer Stelle im Rahmen eines Promotionsverfahrens vorgelegen.

Liljana Gentschew

Kiel, den 17.12.2014