|  |
| --- |
| UURIMISTÖÖ AVALDUS KOOSKÕLASTUSE SAAMISEKS TARTU ÜLIKOOLI INIMUURINGUTE EETIKA KOMITEELT |

**1.UURIMISTÖÖ ANDMED**

**Uurimistöö täielik nimetus:**

„Mikroobikoosluse ja tervise vaheliste seoste uurimine Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu kohordis“

**Uurimistöö toimumiskoht:** Tartu, Eesti Vabariik

**2. UURIMISTÖÖ TEOSTAJAD JA UURINGUKESKUSED**

2.1. Vastutav uurija
ees- ja perekonnanimi: Elin Org Ph.D
amet: genoomika-mikrobioomika kaasprofessor
töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu
töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010
telefoninumber: 7 374039

e-post: Elin.Org@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

2.2. Kaastöötajad

ees- ja perekonnanimi: Prof. Andres Metspalu, M.D, Ph.D
amet: Direktor
töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu
töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010
telefoninumber: 7 375066

e-post: Andres.Metspalu@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Lili Milani, Ph.D
amet: Vanemteadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374039

e-post: lili.milani@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Helene Alavere MD, MScHS
amet: Andmekogumise osakonna juhataja

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 37 4038

e-post: helene.alavere@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Tõnu Esko, Ph.D
amet: Vanemteadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374039

e-post: tonu.esko@gmail.com

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Krista Fischer, Ph.D
amet: Vanemteadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374039

e-post: krista.fisher@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Mari-Liis Tammesoo, MScHS M.Sc
amet: Bioinformaatik

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374029

e-post: Mari-Liis.Tammesoo@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ees- ja perekonnanimi: Triinu Temberg, MScamet: Andmekogujatöökoht: TÜ Eesti Geenivaramutöökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010telefoninumber: 7 37 4031e-post: triinu.temberg@ut.ee/Digitaalne allkiri/ees- ja perekonnanimi: Esta Pintsaaramet: Andmekogujatöökoht: TÜ Eesti Geenivaramutöökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010telefoninumber: 7 37 4030e-post: esta.pintsaar@ut.ee/Digitaalne allkiri/ |  |  |

ees- ja perekonnanimi: Kreete Lüll, Ph.D
amet: TÜ MRI doktorant

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 37 4035

e-post: kreetelyll@gmail.com

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Kristi Krebs, Ph.D
amet: TÜ MRI doktorant

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 37 4039

e-post: krebs.kristi@gmail.com

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Toomas Haller, Ph.D
amet: Vanemteadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374039

e-post: Toomas.Haller@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Maris Teder-Laving, M.Sc
amet: teadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374076

e-post: mtederlav@gmail.com

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Reedik Mägi, Ph.D
amet: Vanemteadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374039

e-post: reedik.magi@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Jaanika Kronberg-Guzman, Ph.D
amet: teadur

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374037

e-post: jaanika.kronberg@gmail.com

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Kertu Liis Krigul, MSc
amet: doktorant

töökoht: TÜ Eesti Geenivaramu

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374035

e-post: kkrigul@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Oliver Aasmets, MSc
amet: doktorant

töökoht: TÜ Genoomika Instituut

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 7 374042

e-post: Oliver.aasmets@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Tõnis Org, PhD
amet: dotsent, vanemteadur

töökoht: TÜMRI, TÜ Genoomika Instituut

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010

e-post: tonisorg@gmail.com

ees- ja perekonnanimi: Kaia Palm, PhD
amet/töökoht 1: juhtivteadur, OÜ Protobios

amet/töökoht 2: vanemteadur, TÜ Genoomika Instituut

töökoha 1 aadress: Mäealuse 4, Tallinn

töökoha 2 aadress: Riia 23b, Tartu 51010

telefoninumber: 55535773

e-post: kaia@protobios.com;kaia.palm@ut.ee

~~Ees- ja perekonnanimi: Helena Andreson~~

~~Teaduslik kraad: PhD~~

~~Amet/töökoht 1: toidu mikrobioloogia dotsent~~

~~Amet/töökoht 2: magistrant~~

~~Töökoha1aadress: Eesti Maaülikool~~

~~Töökoht 2 aadress: TÜ Arvutiteaduste Instituut~~

~~e-post: helena.andreson@emu.ee~~

Ees- ja perekonnanimi: Annabel Raudsepp

Teaduslik kraad: BSc

Amet: magistrant (geenitehnoloogia)

Töökoht: TÜ genoomika instituut

e-post: annabel.raudsepp@gmail.com

~~Ees- ja perekonnanimi: Jennifer Neumaier~~

~~Teaduslik kraad: BSc~~

~~Amet: magistrant (geenitehnoloogia)~~

~~Töökoht: TÜ genoomika instituut~~

~~e-post:~~ ~~jennifer.neumaier@t-online.de~~

~~Ees- ja perekonnanimi:~~ **~~Cheung Wai Chan~~**

~~Teaduslik kraad: BSc~~

~~Amet: magistrant (Science technology)~~

~~Töökoht: TÜ genoomika instituut~~

~~e-post:~~ ~~cheung.wai.chan@ut.ee~~

~~Ees- ja perekonnanimi: Linda Sootak~~

~~Teaduslik kraad: -~~

~~Amet: magistrant (geenitehnoloogia)~~

~~Töökoht: TÜ genoomika instituut~~

~~e-post:~~ ~~lsootak17@gmail.com~~

Ees- ja perekonnanimi: **Reidar Andreson**

Teaduslik kraad: PhD

Amet: bioinformaatika teadur

Töökoht: TÜ molekulaar-ja rakubioloogia instituut

e-post: reidar.andreson@ut.ee

Ees- ja perekonnanimi: **Nele Taba**

Teaduslik kraad: MSc

Amet: spetsialist

Töökoht: TÜ genoomika instituut

e-post: nele.taba@ut.ee

Ees- ja perekonnanimi: Madis Jaagura

Teaduslik kraad: PhD

Amet: järeldoktor

Töökoht: TÜ genoomika instituut

e-post: madisjaagura@gmail.com

Ees- ja perekonnanimi: Signe Altmäe

Teaduslik kraad: PhD

Amet: teadur

Töökoht: Tervisetehnoloogiate arenduskekus AS

e-post: signealtmae@ugr.es

Ees- ja perekonnanimi: Kateryna Pantiukh

Teaduslik kraad: MSc

Amet: spetsialist

Töökoht: TÜ Genoomika instituut

e-post: pantiukh@gmail.com

Ees- ja perekonnanimi: Kelli Lehto

Teaduslik kraad: PhD

Amet: kaasprofessor

Töökoht: TÜ Genoomika Instituut

e-post: kelli.lehto@ut.ee

Ees- ja perekonnanimi: Kadri Kõiv

Teaduslik kraad: PhD

Amet: teadur

Töökoht: TÜ Genoomika Instituut

e-post: kadri.koiv@ut.ee

~~Ees- ja perekonnanimi: Kristin Karu~~

~~Teaduslik kraad:-~~

~~Amet: üliõpilane~~

~~Töökoht: TÜ, füsioteraapia, sporditeaduste ja füsioteraapia instituut~~

~~e-post:~~ ~~activekrissu@gmail.com~~

Ees- ja perekonnanimi: Annabel Toom

Teaduslik kraad: BSc

Amet: magistrant (biomeditsiin)

Töökoht: TÜ genoomika Instituut

e-post: annabel.toom@gmail.com

Ees- ja perekonnanimi:Mathieu Groussin

Teaduslik kraad: PhD

Amet: Professor

Töökoht: Institute for Clinical Molecular Biology,

Christian-Albrechts-University of Kiel

e-post: m.groussin@ikmb.uni-kiel.de

Ees- ja perekonnanimi: Malte Rühlemann

Teaduslik kraad: PhD

Amet: PostDoc

Töökoht: Institute for Clinical Molecular Biology,

Christian-Albrechts-University of Kiel

e-post: m.ruehlemann@ikmb.uni-kiel.de

Ees- ja perekonnanimi: Guillermo G Torres

Teaduslik kraad: PhD

Amet: PostDoc

Töökoht: Institute for Clinical Molecular Biology,

Christian-Albrechts-University of Kiel

e-post: g.torres@ikmb.uni-kiel.de

2.3. Vastutava uurija asutuse juhataja või tema kohusetäitja

on uurimistöö korraldamisega nõus:

Nimi Prof. Mait Metspalu, M.D, Ph.D
amet: Direktor
töökoht: TÜ Genoomika Insituut

töökoha aadress: Riia 23b, Tartu 51010
telefoninumber: 7 375066

e-post: mait.metspalu@ut.ee

/Digitaalne allkiri/

ees- ja perekonnanimi: Kaia Palm

amet: tegevjuht

töökoht: OÜ Protobios

töökoha aadress: Mäealuse 4, Tallinn

Phone: 55535773

Email: kaia@protobios.com

ees- ja perekonnanimi: Huijuan Guo

amet:

töökoht:NOVOGENE (UK) COMPANY LIMITED

töökoha aadress: Cambridge Science Park, 25 Milton Road Cambridge, CB4 0FW, United Kingdom CB4 0FW tel: +44 7518548302

Tel:   +440 1223628750

Email: guohuijuan@novogene.com

ees- ja perekonnanimi: Michelle Mao

amet: BGI Business Development Manager

töökoht: BGI TECH SOLUTIONS (HONGKONG) CO., LIMITED,

töökoha aadress: 12 New Fetter Lane, London EC4A1JP, United Kingdome

tel: +44 7518548302

Email: michelle.mao@bgi.com

ees- ja perekonnanimi: Yicheng Liu

amet: Research Prroject Development Manager

töökoht: LATVIA MGI TECH, SIA (MGI), (Reg.no 50203081351)

töökoha aadress: Lidostas Parks, Mārupe, Mārupes Novads, LV-2167, Latvia

Email: markus.liu@genomics.cn

ees- ja perekonnanimi: Andres Salumets

amet: juhatuse liige

töökoht: Tervisetehnoloogiate arenduskekus A

töökoha aadress: Teaduspargi tänav 13, 50411 Tartu, Estonia

Tel:   +372 733 040

Email: andres.salumets@ut.ee

ees- ja perekonnanimi: Andre Franke

amet: Professor, direktor

töökoht: Institute of Clinical Molecular Biology (IKMB), Christian-Albrechts-University of Kiel & University Hospital Schleswig-Holstein (UKSH)

töökoha aadress: Rosalind-Franklin-Str. 12, 24105 Kiel, Germany

Tel:   +49 431 / 500 - 15 109 or 15 110

Email: a.franke@mucosa.de

**3. UURIMISTÖÖ FINANTSEERIMINE**

* Uuringut rahastatake Euroopa Regionaalarengu Fondi vahenditest (Vabariigi Valitsuse korraldusega 347 27.10.2016 kinnitatud investeeringute kava) (2017-2022)
* Personaalne uurimistoetus PUT 1371, PI Elin Org (2016-2020)
* Personaalne uurimistoetus EMBO3573, PI Elin Org (2018-2022)
* OÜ Protobios omafinantseering ja olemasolevad grantid (PRG573, Panbiora #760921) ja taotletavad uurimisgrantid (ETAG ja H2020 programmid). Kaia Palm, UT, H2020 projekt no 810645 ja EU Regionaalarengu projekt MOBEC008.
* Personaalne uurimistoetus PRG1414, PI Elin Org (2022-2026)

Uurimistöö üldmaksumuseks on 697 573 €, millest töötasude osakaal on 50%.

Grantide vahendeid kasutakse uuringutäitjate palkade maksmiseks vastavalt asutuse kehtivatele palgaeeskirjadele ja projektiga seotud uuringute finantseerimiseks. Uuritavatele uuringus osalemise eest kompensatsiooni ei maksta. Uuritavatele tasutakse uuringukeskusesse sõiduga seotud transpordikulud esitatud dokumentide alusel kuni 50 € ulatuses.

**4. LÜHIÜLEVAADE SIIANI SAMAL TEEMAL LÄBIVIIDUD UURIMISTÖÖDEST**

Teise põlvkonna sekveneerimistehnoloogiate kasutuselevõtt on võimaldanud tuvastada miljoneid mikroorganismie (bakterid, seened, viirused jne.), kes elavad meie organismis ning kelle elutegevus mängib väga olulist rolli meie tervise kujunemisel. Enamik mikroobidest elab inimese seedetraktis, kus nad täidavad mitmeid olulisi funktsioone, nagu näiteks energia omastamine toidust, sapphapete metabolism, limaskesta immuunsüsteemi regulatsioon ja soolestiku barjääri funktsiooni ja metabolismi regulatsioon1-3. Arvukad uuringud nii inimeste kui loommudelitega on näidanud, et meie organismis elutsevad mikroobid mõjutavad väga mitmete haiguste kulgu nagu seedeelundkonna haigused4, metaboolsed haigused (nt. rasvumine ja diabeet)5-8, südamehaigused9-10, neuroloogilised haigused11-12, autoimmuunhaigused13 ja kasvajad14. Toitumine on peamiseks inimese soolestiku mikrobiootat mõjutavaks faktoriks15-17. Näiteks arvatakse, et järsud muutused Lääne ühiskonna toitumisharjumustes on põhilised metaboolsete haiguste (rasvumine ja diabeet) kui ka erinevate toiduallergiate kiire kasvu mõjutegurid18. Samuti on viimastel aastakümnetel sagedane antibiootikumide kasutamine mõjutanud meie mikrobioomi liigilist koosseisu ning seeläbi ka metabolismi19. Antud projekti üheks eesmärgiks on uurida soolestiku mikrobioomi ja erinevate haiguste vahelisi seoseid, keskendudes mitmetele faktoritele, mis mõjutavad mikrobioomi kooslust nagu keskkond, elustiil (toit), vanus, sugu, pärilikkus ja tervislik seisund. Mikrobioomi andmete lisamine kombineeritud analüüsidesse, kus võetakse arvesse indiviidi elustiili ja keskkonnafaktoreid ning erinevaid genoomika (DNA, transkritoom, proteoom, metaboloom) andmeid, võimaldab leida paremaid viise haiguste ennetamiseks ja raviks.

Lisaks mõjutavad suu ja soolestiku mikroobid ka ravimite metabolismi, mängides rolli nii ravimite efektiivsuse kui ka toksilisuse juures20-22. Farmakogenoomilistes teadusuuringutes on viimastel aastatel toimunud suur läbimurre, kus ravimi toimemehhanismide uurimisel võetakse aluseks indiviidide geneetiline varieeruvus. Hoolimata sellest on indiviididevaheline varieeruvus ravimite metaboliseerimisel ja nende toksilisus endiselt suureks probleemiks. Soolestiku mikroobidel võib olla märkimisväärne roll ravimite talumises ja toimemehhanismis, kuid selliseid uurimistöid on tehtud hetkel väga väheste ravimitega. Näiteks on teise tüübi diabeedi ravimi metformiini kasutamisel näidatud muutusi soolestiku mikrobiaalses koosseisus, kuid teadmata on veel täpsed toimemehhanismid23 Eesti Geenivaramu andmestik võimaldab uurida mikrobioomi osalust erinevate ravimite metabolismis. Kasutades Eesti Haigekassa ja e-Tervise andmeid ravimite kasutamise ja kõrvaltoimete kohta võimaldab Eesti Geenivaramu andmestik leida ravimitest tingitud kõrvaltoimete ja mikrobioomi vahelisi seoseid. Olemasolev geneetiline andmestik võimadab leida ka teadaolevate ravimite metabolismis osalevate geenide farmakogeneetiliste markerite ja mikrobioomi vahelisi seoseid. Kombineerides mikrobioomi analüüsi inimese geneetilise varieeruvusega on võimalik leida uusi haiguste tekkemehhanisme ning saada ulatuslikumat ülevaadet ravimite metabolismi ja taluvuse kohta.

**5. KAVANDATAVA UURIMISTÖÖ EESMÄRK, KOKKUVÕTE JA PÕHJENDUS**

Antud projekti eesmärk on välja selgitada geenidoonorite suu ja soolestiku mikroobikoosluse seoseid nende tervisenäitajatega, mikrobioota rolli erinevate haiguste kujunemisel ja ravimite metabolismis ja taluvuses. Käesoleva projekti raames plaanitakse tagasi kutsuda kuni 4000 geenidoonorit, kellelt kogutakse teise ajapunkti terviseandmed, määratakse verest metaboliitide kontsentratsioonid ning võetakse lisaks proovid suu ja soolestiku mikroobide määramiseks. Uurimistöö käigus määratakse geenidoonorite suus ja soolestikus olevate mikroobide liigiline ja funktsionaalne profiil. Mikrobioomi andmed kombineeritakse mitmetasandilise geneetilise informatsiooniga, kuhu kuuluvad andmed genoomi varieeruvuse, transkriptoomi ja proteoomi tasemete ning metaboloomi kohta nii erinevate komplekshaigustega ([haigus](https://et.wikipedia.org/wiki/Haigus)ed, mida põhjustab kombinatsioon geneetilistest, keskkonna- ja elustiiliteguritest) patsientide kui ka tervete uuritavate korral. Samuti vaadatakse mikrobioomi seoseid ravimite manustamise varieeruvuse ja taluvusega, kus kombineeritakse uuritava genoomis teadaolevad ravimite toimet põhjustavad geneetilised varieeruvused mikrobioomi andmetega. Viimaste aastate uurimistööd on näidanud selgelt suu ja soolestiku mikroobide olulist rolli nii erinevate haiguste kujunemisel kui ka ravimite metabolismis. Andmete analüüsimiseks küsitakse luba kasutada geenidoonorite tervise hindamiseks andmeid Geenivaramu andmekogust, kus asuvad Tervise infosüsteemiga lingitud andmed. Iga uuringus osalenund geenidoonori kohta soovitakse infot kaasuvate haiguste (RHK-10 koodid) ja retseptiravimite andmebaasi alusel väljaostetud ravimite (ATC koodide alusel) kohta. Antud uurimistöö käigus laiendatakse Eesti Geenivaramu valmit mikrobioomi andmetega, mis võimaldab lisaks inimese genoomi uurimisele võtta arvesse tervise hindamiseks ka meie organismis elutsevate mikroobide elutegevuse. Selline mitmetahuline analüüs annab võimaluse leida uus haiguste tekkemehhanisme, avastada uusi markereid, mis aitaksid diagnoosida haigusi juba nende varajases staadiumis ning samuti uurida mikrobioomi olulisust ravimite toimele. Sellisel tasemel kompleksseid uuringuid populatsioonipõhises kohordis pole varem läbi viidud.

**6. UURIMISTÖÖ TEOSTAMISE AEG**

Algus: Veebruar 2017, lõpp: 31. detsember 2026.

**7. UURITAVATE JA NENDE VÄRBAMISVIISI TÄPNE KIRJELDUS**

**Valimi koostamine**

Valimi aluseks on Eesti Geenivaramu (edaspidi EGV) andmebaasis olevad geenidoonorid (edaspidi GD), kes on EGV-ga liitunud ajavahemikul 2007-2010. Nende hulgast koostatakse juhuvalim 4000 GD-st, kellega rekontakteerutakse kirja teel ning pakutakse võimalust osaleda uuringus. Uuringus osalemise kutse saadetakse 4000 GD-le arvestusega, et eeldatav vastamismäär on vähemalt 50%.

Valimi koostamisel toimub kohandamine vanusele, soole, sünnikohale (maakonna tasandil).

Väljalülitamise kriteeriumiks on muu rahvus kui eestlane, kuna selles populatsioonipõhises teadustöös uuritakse eestlasi. Kirju ei saadeta GD-le, kes on keelanud oma andmete täiendamise. Nimetatud GD-te valimist eemaldamiseks kontrollitakse valimi nimekirja andmete täiendamist keelanute andmebaasiga. Surnud geenidoonoritele kutsete saatmise vältimiseks kasutatakse Rahvastikuregistri linkimise andmeid. Rahvastikuregistriga linkimised toimuvad igal aastal märtsis ning uus linkimine on plaanis enne kirjade saatmist geenidoonoritele.

**Geenidoonorite andmete tagasikodeerimise taotlus**

Antud uurimustöö raames toimub GD-te andmete tagasikodeerimine, milleks palume TÜ Inimuuringute eetika komitee kooskõlastust. Tagasikodeerimine toimub GD-te kontaktandmete saamiseks. Uuritavad isikud on allkirjastanud geenidoonoriks saamise nõusoleku vormi, millega GD-d on andnud nõusoleku oma andmete täiendamiseks. GD-ks saamise nõusoleku vorm ning selle täitmise ja säilitamise kord on sätestatud Sotsiaalministri 2001. a. 17. detsembri määrusega nr. 125. GD-te kontaktandmed on saadud tagasikodeerimise käigus. Inimgeeniuuringute seaduse (IGUS) §24 lõige (2) punkt 4 kohaselt on tagasikodeerimine lubatud vastutava töötleja ettepanekul ja eetikakomitee nõusolekul geenidoonori tuvastamiseks, temaga ühenduse võtmiseks ning tema kirjalikul nõusolekul terviseseisundi kirjelduse uuendamiseks, täiendamiseks või kontrollimiseks. Uuringusse ei kaasata geenidoonoreid, kes on keelanud oma andmete täiendamise, uuendamise ja kontrollimise.

Kutse saadetakse GD-le kas nimelise kirjaga posti teel või e-posti teel, kui on olemas emaili aadress. Kiri märgistatakse tähisega „Isiklik“. Postiseaduse § 33 lõige (1) kohaselt on postisaladus postisaadetise sisu ja konkreetse isiku postikäivet puudutav informatsioon ning sama seaduse lõige (2) sätestab, et postiteenuse osutaja, tema töötaja ja postiteenuse osutajat juhtima õigustatud isik peavad hoidma postisaladust nii teenuse osutamise ajal kui ka pärast seda. GD-le saadetav kiri sisaldab infokirja GD-le (lisa 1), väljaheite kogumise katsuti koos juhendiga ja küsimustik kodus täitmiseks(lisa 3). Mittevastanutele on kavas saata meeldetuletavad kirjad, mille sisu on analoogne esimese kirja omaga. Kutseid saadab ning vastuseid ja vastuvõtuaegu registreerib selleks volitatud isik. Isikustatud andmeid hoitakse kodeerimiskeskuses.

Pärast kirja saamist võtavad GD-d ühendust EGV-ga kas telefoni, SMS-i või elektronkirja teel, seejärel lepitakse kokku vastuvõtuaeg andmekoguja juurde. Andmekogumise protseduur viiakse läbi EGV andmekogumiskabinettides ning on analoogne EGV põhiandmekogumise käigus teostatavate toimingutega, mida reguleerivad EGV andmekogumise protseduurijuhendid. Uuringu käigus võetakse geenidoonorilt 50 ml veeniverd, milleks kasutatakse ühekordseid vahendeid. Korduv vereproovi võtmine toimub biokeemiliste markerite (metaboliitide) määramiseks vereplasmast. Lisaks võetakse GD suu mikrobioomi proov ja väljaheite proov (roojaproov), et hinnata suu ja soolestiku mikroobiline koostis ja funktsionaalne roll. Korduva vereproovi, suu limaskesta kaape ja väljaheiteproovi võtmiseks annab geenidoonor kirjaliku nõusoleku allkirjastades nõusolekuvormi (lisa 2).

**8. UURIMISMETOODIKA TÄPNE KIRJELDUS**

Uuring toimub EGV-s ning selle käigus kogutakse andmed kuni 4000 eestlase suu ja soolestiku mikrobioomi profiili ja funktsiooni kohta ning seostatakse kogutud andmeid inimese genoomi ja metaboloomika andmetega.

EGV andmekabinettides viiakse läbi geenidoonorite taasküsitlemine ja koe ning suu mikrobioomi proovide kogumine ja esmane töötlemine. Soolestiku mikrobioomiproov (väljaheite proov) saadetakse EGVsse spetsiaalses katsutis postiga, kasutades makstud vastusega ümbrikut. Antud uuringu andmekogumise protseduur on analoogne esmakordselt geenidoonoriks saamisega. Uuringus osalemiseks allkirjastavad GD-d *Uuritava informeerimise ja teadliku nõusoleku lehe* (lisa 2). Suu ja väljaheite proovidest eraldatakse bakteriaalne DNA, mis sekveneeritakse kasutades kas 16S rRNA varieeruvaid piirkondi või kogu genoomi sekveneerimist (metagenoomika). Sekveneerimisel kasutatakse Illumina tehnoloogiaid (MiSeq või HiSeq 2500 sekvenaatoreid).

Bakterigenoomide sekveneerimisanalüüs planeeritakse läbi viia firmades BGI TECH SOLUTIONS harufirmas LATVIA MGI TECH, SIA (MGI)(Dr. Yicheng Liu), Novogene (Dr. Ruiqiang Li). Mõlemas uurimisasutuses on olemas selliste analüüside tegemise võimekus. Proovide väljasaatmiseks väljaspool Eesti Vabariigi territooriumi taotletakse eraldi luba Tartu Ülikooli senatist. Väljastatakse uuringu raames kogutud iga geenidoonori (N=4000) kohta süljeproov (à 500µl), väljaheite proov (à 500mg), bakterite DNA proov (à 2 µg). Sülje ja väljaheiteproovist eraldatakse bakteriaalne DNA, millega tehakse sekveneerimisanalüüs. Saadud tulemuste edasine analüüsimine toimub Eestis. Seetõttu uurijaid välismaalt ei kaasata. Fenotüübi andmeid ei väljastata, kõik analüüside tulemused säilitatakse üksnes TÜ EGV andmebaasides ning kogu protsessist ülejääv bioloogilise materjali ülejääk kas saadetakse TÜ EGVsse tagasi, või hävitatakse.

Koostöö raames Christian-Albrechts-Kieli Ülikooli Kliinilise Molekulaarioloogia instituudiga (IKMB) Saksamaal teostatakse valitud geenidoonoritele (kuni 500 geenidoonorit) sekveneerimisanalüüs IKMB-s Saksamaal. Tegemist on koostööprojektiga, mille eesmärgiks on uurida põletikulise soolehaiguse (IBD) seoseid mikrobioomiga, mille raames valitakse antud uuringu raames kogutud uuritavatest välja sobilikud kontroll-indiviidid uuringusse kaasatud IBD patsientidele (IBD patsiendid on kogutud teise uurimisprojekti raames, tegemist ei ole geenidoonoritega).

IKMB-le väljastatakse uuringu raames kogutud iga geenidoonori (N=500) bakteriaalne DNA proov (à 2 µg), millele teostatakse sekveneerimisanalüüs. Saadud tulemuste edasine analüüsimine toimub Eestis. Sekveneerimisandmete analüüsil osalevad ainult uurijad, kes on lisatud uurimistaotlusele. Fenotüübi andmeid ei väljastata, kõik analüüside tulemused säilitatakse üksnes EGV andmebaasides ning kogu protsessist ülejääv bioloogilise materjali ülejääk kas saadetakse EGVsse tagasi või hävitatakse. Proovide edasine staatus lepitakse kokku täpsemalt lepingus.

Koeproovid väljastatakse mikroobse DNA sekveneerimiseks:

Institute for Clinical Molecular Biology

Christian-Albrechts-University of Kiel

Rosalind-Franklin-Str. 12

24105 Kiel, Germany

Analüüsiks kasutakse vabalt kättesaadavaid tarkvaraprogramme nagu QIIME ja MOTHUR. Lisaks mikroobide liigilise koosseisu määramisele, hinnatakse mikroobide funktsionaalne profiil, kasutades kas 16S rRNA-l põhinevat PICRUST algoritmi või kogu genoomi sekveneerimist. Igale GD-le koostatakse kataloog suus ja soolestikus esinevate mikroobidest ning esinevate mikroorganismide funktsioonidest. Mikrobioomi ja tervisenäitajate hindamisel kasutatakse erinevaid vabavarana saadaolevaid tarkvara pakette nagu *Vegan*, *MaAsLin*, *Stamp, LefSe, Plink*. Lisaks määratakse uuritavate vereproovist metaboliitide koosseis. Mikroobide ja metaboliitide vaheliste seoste hindamiseks kasutame ka võrgustiku (*network*) analüüsi (WGCNA mudel). Selline mitmetahuline analüüs annab võimaluse leida nii üksikuid mikroob-metaboliit vahelisi seoseid kui ka kompleksseid võrgustikke ja radasid. Antud projekti raames on EGV-s plaanis analüüsida lisaks uurimistöö käigus saadud mikrobioomi andmetele ka varasemates uuringutes teostatud DNA sekveneerimise ja genotüpiseerimise, transkriptoomi, proteoomika, epigeneetika andmeid ning teostataks bioinformaatilisi analüüse kasutades süsteemibioloogia meetodeid. Selliste analüüside käigus proovitakse leida uusi biomarkereid erinevate haiguste tuvastamiseks ja ravi edukuse jälgimiseks.

 Uuringu käigus kogutud plasmaproovidest (seisuga september 2020 on kogutud proovid 2500 geenidoonorilt) on plaanis määrata antikeha epitoopide profiil kasutades mimotoop-variatsiooni analüüsi (MVA, immunoprofileerimine) meetodit. Lühidalt, ühes MVA analüüsis kasutatakse 2.5ul plasmat, mis inkubeeritakse juhuvalikuga peptiidi M13 faagidisplei raamatukoguga. Seejärel faag-antikeha kompleksid püütakse proteiin G-kattelistele magnetkerakestele. Mitteseondunud faagid eemaldatakse korduvpesudega, seondunud fraktsioon lüüsitakse, DNA amplifitseeritakse ning peptiidsed järjestused tuvastatakse kasutades faagi DNA sekveneerimiseks Illumina HiSeq meetodit. Saadud peptiidide andmestikust valitakse statistilisi meetodeid kasutades välja parimad kontroll- ja katserühma eristavad epitoobid spetsiifilisuse ja sensitiivsuse väärtuste kriteeriumi alusel ning neid analüüsitakse edasiselt järgnevas valideerimise protsessis erinevate immuunanalüüsi meetoditega, sh peptiidikiip (vajadusel ELISA või Western blot analüüs24. Seerumis leiduvate antikehade valideerimiseks peptiidikiibi meetodil peptiidid või faagid prinditakse, lisatakse peptiidikiibile lahjendatud plasma ning inkubeeritakse üleöö. Tris-puhverdatud soolalahuse (TBS) pesude järgselt lisatakse märgisega konjugeeritud inimese Ig vastased sekundaarsed antikehad. Inkubatsiooni järel pestakse kiipi TBS-i ja veega, lastakse kuivada, skaneeritakse ning tulemused analüüsitakse vastavate pildi töötlusprogrammidega. Valideerimiseks kasutatavad peptiidsed või valgulised antigeenid kas sünteesitakse või saadakse a) rekombinantseid meetodeid kasutades; b) kommertsiaalsetest allikatest. Kõik laboris teostatavad katsed toimuvad vastavalt laboris eelnevalt välja töötatud protokollidele ehk SOP-dele (*standard operating procedur*es). Immunoprofileerimisega seotud töödeks plaanitakse kasutada kuni 200ul plasmat. Töö eksperimentaalne teostamine ja saadud tulemuste analüüsimine toimub Eestis. Fenotüübi andmeid ei väljastata, kõik analüüside tulemused säilitatakse üksnes TÜ EGV andmebaasides ning kogu protsessist ülejääv bioloogilise materjali ülejääk kas saadetakse TÜ EGVsse tagasi, või hävitatakse.

Kuna mikrobioomi kooslus muutub kogu eluea vältel ning seda mõjutavad väga paljud erinevad faktorid, siis on väga oluline jälgida mikrobioomi muutusi ajas pikemalt ning koguda andmed erinevatest ajapunktidest. See annaks võimaluse hinnata geenidoonorite mikrobioomi muutusi koos tervise muutustega ning hinnata mikrobioomi mõju näiteks haiguste kujunemisel ja/või ravimite tarbimisel. Üheks oluliseks uurimisküsimuseks oleks välja selgitada, milline on soolestiku ja suu mikrobioomi mõju haigusriskide hindamisel. Riskimudelite välja töötamiseks oleks vajalik meil jälgida mikrobioomi muutusi ajas ning neid analüüsida koos inimese elustiili ja terviseparameetritega. Seetõttu soovime koguda uuringus juba osalenud geenidoonoritelt lisaks proovid veel ühest andmepunktist. Kogutakse täpselt samad proovid, mis esialgu: suu limaskesta kaape proov, väljaheite proovi soolestiku mikroobide määramiseks ning 1 vereproov (50 mL) vereplasmast metaboliitide määramiseks. Uuringut plaanitakse läbi viia arvestusega, et teise ajapunkti proovid oleksid kogutud vähemalt 4 aastat peale esimese ajapunkti kogmist (esimeste proovide kogumisega alustati 2017 aasta sügisel). Uuringus osalenud geenidoonorile saadetakse elektronkirjaga *Uuringu infokiri* (lisa 4), milles kutsutakse geenidoonorit osalema uuesti „Mikroobikoosluse ja tervise vaheliste seoste uurimine Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu kohordis“ teadusuuringus, mille raames soovitakse koguda proovid teisest ajapunktis. Kutses selgitatakse vajadust teise andmepunkti proovide kogumiseks. Uuringus osalemiseks palutakse geenidoonoril (GD) minna <https://geenidoonor.ee> lehele ning sisse logida „Mikrobioomi uuringute“ keskkonda, kus on võimalik allkirjastada uuringus osalemiseks nõusoleku vorm (lisa 5). Nõusoleku vormis palume geenidoonorite täpsustada oma kontaktandmeid (e-posti ja postiaadress), et saaksime neile saata proovi kogumise katsuti ning vajadusel ühendust võtta. Peale nõusoleku andmist saadetakse GD-tele koju väljaheite proovi võtmise juhend ja kogumise katsuti ning registreeritakse veebis vastuvõtu aeg Geenivaramu andmekogumise kabinetti. Lisaks proovide kogumisele palutakse uuringus osalejatel täita uuesti uuringus varem kasutatud veebipõhine uuringuküsimustik, mis võimaldab hinnata GD-te elustiili ja tervist teises ajapunktis (lisa 3). Meie esimese ajapunkti andmete analüüs näitas, et nii vaimse tervisega seotud haigused kui ka antidepressantide kasutamine mõjutavad oluliselt soolestiku mikrobioomi. Kuna viimased 4 aastat on olnud inimestele väga keeruline aeg (koroona epideemia jt. tegurid), mis võivad avaldada olulist mõju vaimsele tervisele, siis sooviksime teises ajapunktis lisada oma uuringuküsimustikule juurde ka küsimused (lisa 3; küsimustiku blokid nr 31-33), mis võimaldaks täpsemini hinnata geenidoonorite heaolu ja vaimset tervist samas ajapunktis kogutud mikrobioomi proovidega. Vaime tervise ja heaolu hindamiseks kasutatakse EEK2 instrumenti ning CIDI intervjuul baseeruvaid skriiningküsimusi elu jooksul esinenud vaimse tervise probleemide hindamiseks. Küsimustiku täitmine võtab aega umbes 30 minutit. Uues ajapunktis kogutud proovide töötlemine ning analüüs toimub nagu on kirjedatud põhitaotluses. Andmete edasiseks analüüsimiseks palutakse luba kasutada geenidoonorite tervise hindamiseks andmeid Geenivaramu andmekogust, kus sisalduvad Tervise infosüsteemiga lingitud andmed. Iga uuringus osalenund geenidoonori kohta soovime saada teha päringuid kaasuvate haiguste (RHK-10 koodid) ja retseptiravimite andmebaasi alusel väljaostetud ravimite (ATC koodide alusel) kohta. Uurijad saavad terviseandmestiku info pseudonüümitult geenidonorite kohta.

**9. UURIMISTÖÖ EETILISTE ASPEKTIDE KIRJELDUS**

Analüüsitavad koeproovid on loovutanud isikud, kes on vabatahtlikkuse alusel hakanud TÜ EGV geenidoonoriks. Uuringus osalemine on vabatahtlik. Osaleda soovijatele on antud võimalus saada eelnevalt lisainformatsiooni uuringu tingimuste ja eesmärkide kohta.

Uuringu kasud:

Uurimistöö tulemusena loodame tuvastada mikrobioomi seoseid tervisenäitajate ja pärilikkusega, mis võiks aidata avastada uusi haiguste tekkemehhanisme. Samuti uurime mikrobioobi seost ravimite metabolismiga, mis võimaldab saada ulatuslikumalt ülevaadet ravimite metabolismist ja taluvusest. Selliste mehhanismide täpsem tundmine võimaldab anda soovitusi elustiili muutmiseks vastavalt inimese mikrobioomi ja geneetilisele omapärale.

Käeoleva uuringu tulemuste kohta GD-le personaalset tagasisidet ei anta, kuna kogutavad andmed on aluseks edasistele uuringutele ning seoste leidmine geeniandmete, keskkonnategurite ja mikrobioomi vahel ongi käesoleva uuringu eesmärk. Kaudset kasu saavad aga kõik GD-d, sest uurimistöö tulemusena saadakse uut teavet ning tagasiside andmisel GD-le on see väärtuslikuks lisainformatsiooniks.

Uuringu riskid:

Isikuandmete turvaline käitlemine antud uuringu käigus on tagatud EGV-s kasutusel olevate isikuandmete kaitse meetmetega ja infotehnoloogiliste lahendustega. Need on kasutusel olnud alates EGV andmekogumise algusest ning pidevalt täienenud. EGV-s on kõik andmekogumise protseduurid kirjeldatud ning neid järgitakse rangelt.

Biomaterjali kogumisega seotud riskide vähendamiseks on kasutusel ainult ühekordsed materjalid ning vereproovide kogumist viivad läbi kogenud andmekogujad.

9.1 Uurimistöö andmekaitse aspektid

Uurimistöös kasutatakse varem TÜ EGVga liitunud geenidoonorite andmeid, mis on pseudonüümitud. Tagasikodeerimist võimaldavad koodid ning isikuandmed paiknevad kodeerimiskeskuses, mis on kõrgeima turvalisusastmega ala EGVs. Tagasikodeerimist teostab EGV töötaja, kellele on EGV direktori käskkirja alusel antud õigus isikustatud andmete töötlemiseks. Andmekogumise protseduur viiakse läbi EGV andmekogumiskabinetis juhindudes EGV andmekogumise protseduurijuhenditest. Kutseid ei saadeta geenidoonoritele, kes on keelanud oma andmete täiendamise. Uurijad töötavad eranditult vaid anonüümsete andmetega

**10. TEAVE SAMA PROJEKTI VARASEMAST VÕI SAMAAEGSETEST HINDAMISTEST VÕI HEAKSKIITMISTEST MUJAL**

Ei ole.

**11. LISAD:**

1. Infokiri geenidoonorile
2. Uuritava informeerimise ja teadliku nõusoleku leht
3. Uuritava informeerimise ja teadliku nõusoleku leht\_teine ajapunkt
4. Küsimustik

Uuringu läbiviijate CV-d

**KASUTATUD KIRJANDUS**

1. Tremaroli, V. & Bäckhed, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* **489,** 242–9 (2012).
2. Round, J. L. & Mazmanian, S. K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* **9,** 313–23 (2009).
3. Ridlon, J. M., Kang, D. J., Hylemon, P. B. & Bajaj, J. S. Bile acids and the gut microbiome. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **30,** 332–8 (2014).
4. Palm, N.W. et al. Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease. Cell **158**, 1000–1010,(2014)
5. Karlsson, F., Tremaroli, V., Nielsen, J. & Bäckhed, F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes* **62,** 3341–9 (2013).
6. Qin, J. *mfl.* A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* **490,** 55–60 (2012).
7. Karlsson, F. H. *mfl.* Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* **498,** 99–103 (2013).
8. Org, E. *mfl.* Genetic and environmental control of host-gut microbiota interactions. *Genome Res.* **25,** 1558–69 (2015).
9. Wang, Z. *mfl.* Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* **472,** 57–63 (2011).
10. Tang, W. H. W. *mfl.* Intestinal microbiota-dependent phosphatidylcholine metabolites, diastolic dysfunction, and adverse clinical outcomes in chronic systolic heart failure. *J. Card. Fail.* **21,** 91–6 (2015).
11. Mayer, E.A., Knight, R., Mazmanian, S.K., Cryan, J.F., Tillisch, K.. Gut microbes and the brain: paradigm shift in neuroscience. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. **34**, 15490–15496. (2014)
12. Sampson, T.R., Mazmanian, S.K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. Cell Host Microbe **17**, 565–576 (2015).
13. Vaahtovuo J, Munukka E, Korkeamaki M, Luukkainen R, Toivanen P. Fecal microbiota in early rheumatoid arthritis. J Rheumatol **35**:1500–1505 (2008).
14. Wroblewski LE, Peek RM, Coburn LA. The Role of the Microbiome in Gastrointestinal

Cancer. Gastroenterol Clin North Am.(2016)

1. Parks, B. W. *mfl.* Genetic control of obesity and gut microbiota composition in response to high-fat, high-sucrose diet in mice. *Cell Metab.* **17,** 141–152 (2013).
2. David, L. A. *mfl.* Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature* **505,** 559–63 (2014).
3. Wu, G. D. *mfl.* Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* **334,** 105–8. (2011)
4. Tan J, McKenzie C, Vuillermin PJ, Goverse G, Vinuesa CG, Mebius RE, Macia L, Mackay CR. Dietary Fiber and Bacterial SCFA Enhance Oral Tolerance and Protect against Food Allergy through Diverse Cellular Pathways.*Cell Rep*. Jun **21**;15(12):2809-24.(2016)
5. Simone Becattini, Ying Taur, Eric G. Pamer. Antibiotic-Induced Changes in the Intestinal Microbiota and Disease. Trends Mol Med. Jun; **22**(6): 458–478. (2016)
6. Spanogiannopoulos, P., Bess, E. N., Carmody, R. N. & Turnbaugh, P. J. The microbial pharmacists within us: a metagenomic view of xenobiotic metabolism. *Nat. Rev. Microbiol.* Apr;14(5):273-87, (2016).
7. Haiser, H. J., Seim, K. L., Balskus, E. P. & Turnbaugh, P. J. Mechanistic insight into digoxin inactivation by Eggerthella lenta augments our understanding of its pharmacokinetics. *Gut Microbes* **5,** 233–238 (2014).
8. Haiser, H. J. & Turnbaugh, P. J. Is it time for a metagenomic basis of therapeutics? *Science* **336,** 1253–5 (2012)
9. McCreight, L. J., Bailey, C. J. & Pearson, E. R. Metformin and the gastrointestinal tract. *Diabetologia* **59,** 426–35 (2016)