

VI MẮT ĐOẠN NHIỄM SẮC THỂ Y – VÙNG GENE AZF, KIỂU HÌNH LIÊN QUAN VÀ NGUYÊN TẮC SÀNG LỌC

Nguyễn Bảo Trâm, Nguyễn Hoàng Nhất Minh
Trung tâm Nghiên cứu Di truyền và Sức khỏe Sinh sản – CGRH

Từ khóa: Vi mất đoạn NST Y, Vô sinh nam, AZF.

Keywords: Y chromosome microdeletion, AZF, male infertility, microdeletion, genetic testing.

Tóm tắt

Quá trình sinh tinh trùng ở người là một quá trình thiết yếu trong sự sinh sản, được kiểm soát bởi nhiều nhóm gene đặc biệt trên nhiễm sắc thể Y (NST Y). Những gene này nằm trên một vùng đặc biệt gọi là vùng AZF (azoospermia factor region) ở cánh dài của NST Y. Mất đoạn vùng AZF được ghi nhận là dạng bất thường cấu trúc NST Y thường gặp nhất và cũng là nguyên nhân phổ biến gây vô sinh nam. Mỗi loại mất đoạn AZF khác nhau đều có những ảnh hưởng lên khả năng sinh tinh ở các mức độ khác nhau, bệnh nhân bị giảm số lượng tinh trùng từ trung bình đến trầm trọng (mật độ tinh trùng từ 0,1 – 2 triệu/ml) (1) hoặc không có tinh trùng. Các loại mất đoạn AZF đều có thể xác định nhờ các kỹ thuật sinh học phân tử như STS – PCR (Sequence-Tagged Site Polymerase Chain Reaction), SAT (Suspension Array Technology), aCGH (Array-Comparative Genomic Hybridization), mỗi kỹ thuật đều có những ưu điểm và những giới hạn riêng.

Tùy vào loại mất đoạn, các kỹ thuật hỗ trợ sinh sản như bơm tinh trùng vào bào tương trứng (ICSI – Intracytoplasmic Sperm Injection) và thu nhận tinh trùng từ tinh hoàn (TESE – Testicular Sperm Extraction) có thể giúp bệnh nhân có con hoặc không. Tuy nhiên, những kỹ thuật này làm tăng nguy cơ di truyền gene bệnh từ cha sang con. Mặc dù, sự di truyền vi mất đoạn vùng AZF từ cha sang con đã được báo cáo rộng rãi nhưng vẫn chưa có sự đồng thuận về việc sử dụng kỹ thuật hỗ trợ sinh sản và việc xuất hiện các dạng vi mất đoạn có tương quan với nhau, cũng như vẫn chưa thể lý giải nguyên nhân của sự mất đoạn xảy ra kiểu de novo. Trong bài tổng quan này, chúng tôi sử dụng kiến thức mới nhất có thể để hệ thống lại khái niệm vi mất đoạn NST Y bao gồm chức năng của vùng AZF và các gene liên quan, các loại mất đoạn vùng AZF và kiểu hình tương ứng cùng đặc tính di truyền từ cha sang con. Đồng thời, chúng tôi cũng giới thiệu, cập nhật những phương pháp tiếp cận để sàng lọc vi mất đoạn NST Y.

Từ khóa: Vi mất đoạn NST Y, Vô sinh nam, AZF.

Tác giả liên hệ (Corresponding author):

Nguyễn Bảo Trâm,

email: nbtram@vnuhcm.edu.vn

Ngày nhận bài (received): 19/9/2016

Ngày phản biện đánh giá bài báo (revised): 23/10/2016

Ngày bài báo được chấp nhận đăng

(accepted): 30/12/2016

Abstract

Y CHROMOSOME MICRODELETION - GENE OF AZF REGION, RELATED PHENOTYPES AND SCREENING

Spermatogenesis is an essential reproductive process that is regulated by many Y chromosome specific genes. Most of these genes are located in a specific region known as the azoospermia factor region (AZF) in the long arm of the human Y chromosome. AZF microdeletions are recognized as the most frequent structural chromosomal abnormalities and are the major cause of male infertility. Assisted reproductive techniques (ART) such as intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) and testicular sperm extraction (TESE) can overcome natural fertilization barriers and help a proportion of infertile couples produce children; however, these techniques increase the transmission risk of genetic defects. AZF microdeletions and their associated phenotypes in infertile males have been extensively studied, and different AZF microdeletion types have been identified by sequence-tagged site polymerase chain reaction (STS-PCR), suspension array technology (SAT) and array-comparative genomic hybridization (aCGH); however, each of these approaches has limitations that need to be overcome. In this review, we will systematically update the progress that has been made in AZF region identification, describe novel approaches for AZF microdeletion screening and summarize the current understanding of associated gene functions, AZF microdeletion types and AZF microdeletion phenotypes. Furthermore, we will specifically discuss the transmission characteristics of AZF microdeletions and outline the future goals of research in this field.

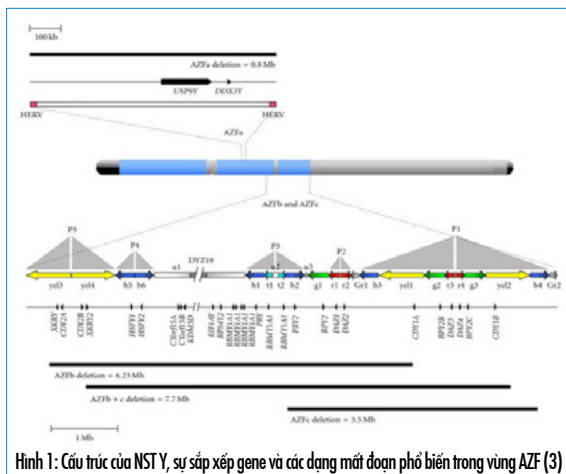
Keywords: Y chromosome microdeletion, AZF, male infertility, microdeletion, genetic testing.

1. Vùng AZF và các gene quan trọng

NST Y gồm một cánh dài (Yq) và một cánh ngắn (Yp). Yp và Yq11 là những vùng đồng nhiễm sắc, trong khi đó vùng xa (so với tâm động) của cánh dài - Yq12, lại là vùng dị nhiễm sắc. Những gene đặc trưng cho giới tính nam trên NST Y (Male

- Specific region of the Y chromosome – MSY) phân bố cả trên vùng đồng nhiễm sắc lẫn dị nhiễm sắc và chiếm 95% chiều dài NST Y. Trình tự trên MSY ở vùng đồng nhiễm sắc được chia thành 3 loại: X-transposed (3,4 Mb), X- degenerate (8,6 Mb) và ampliconic (10,2 Mb). Trong đó, trình tự dạng ampliconic là những trình tự lặp lại theo cặp, tương đồng đến hơn 99,9%, được sắp xếp trong các palindrome lớn (các trình tự này trong palindrome được gọi là các đơn vị amplicon). Có 8 palindrome lớn được ký hiệu từ P1 – P8 trên NST Y (1), (2) (Hình 1).

Nếu cả vùng MSY chứa 156 đơn vị phiên mã bao gồm 78 gene mã hóa cho 27 protein thì loại trình tự dạng ampliconic đã mang 60 gene mã hóa cho những protein biểu hiện chính hoặc chỉ biểu hiện tại tinh hoàn (1). Thuật ngữ AZF (azoospermia factor region) được sử dụng cho những vùng trình tự dạng ampliconic, chứa các gene liên quan đến sự sinh tinh trùng. Khi có đột biến mất đoạn trong vùng AZF sẽ dẫn đến vô tinh hoặc thiếu tinh. Năm



Hình 1: Cấu trúc của NST Y, sự sắp xếp gene và các dạng mất đoạn phổ biến trong vùng AZF (3)

1996, dựa vào kiểu hình của 370 bệnh nhân vô tinh hoặc suy giảm số lượng tinh trùng kết hợp phân tích sự mất đoạn của 76 locus trên cánh dài NST Y, Vog P. H và cộng sự đã chia AZF thành 3 vùng: AZFa (~ 1,1 Mb), AZFb (~6,2 Mb), AZFc (~3,5 Mb) (4). Trong đó, trình tự AZFb và AZFc trùng lặp nhau khoảng 1,5 Mb (2) (Hình 1). Các gene đặc trưng trong từng vùng AZF được mô tả trong Bảng 1.

2. Các dạng mất đoạn AZF và kiểu hình tương ứng

Vi mất đoạn NST Y được ghi nhận ở khoảng 10 – 15% bệnh nhân vô tinh, 5 – 10% bệnh nhân thiếu tinh nạng (mật độ tinh trùng từ 0,1 – 2 triệu/ml) (2). Mất hoàn toàn vùng AZFa gây mất khoảng 792 kb trình tự DNA chứa 2 gene. Mất hoàn toàn vùng AZFb gây mất 32 gene bao gồm tất cả những họ gene đặc trưng cho tinh hoàn tại vùng này với tổng cộng 6,23 Mb trình tự DNA. Trong khi đó, mất AZFc sẽ xóa hoàn toàn 3.5 Mb trình tự DNA với 21 gene và 7 họ gene (Hình 1). Ngoài ra, mất đoạn NST Y còn ghi nhận các mất đoạn lớn hơn như mất đoạn AZFab, AZFac, AZFabc, AZFbc (2). Năm 2003, những dạng mất đoạn không hoàn toàn vùng AZFc đã được công bố, bao gồm mất đoạn dạng b1/b3, b2/b3 và gr/gr. Tuy nhiên, chỉ có một loại mất đoạn gây chú ý về mặt lâm sàng, đó là mất đoạn gr/gr. Tên của loại mất đoạn này được đặt theo màu huỳnh quang của mẫu dò ("green" và "red"), các mẫu dò này được sử dụng để xác định những cặp amplicon tái tổ hợp gây mất đoạn (g1/g2, r1/r3, r2/r4) (1). Những đoạn mất dạng gr/gr có kích thước khoảng 1,6Mb, loại đi 2 bản sao của gene DAZ (DAZ1/DAZ2), 1 bản sao của gene CDY (CDY1a) và 1 bản sao của gene BPY2 (6). Năm 2009, Krausz và cộng sự đã có bổ sung, mất đoạn gr/gr làm mất 4 vùng gene chủ yếu sau: DAZ1/DAZ2 + CDY1a, DAZ1/DAZ2 + CDY1b, DAZ3/DAZ4 + CDY1a, DAZ3/DAZ4 + CDY1b (7). Cơ chế của mất đoạn NST Y được xác định là do sự tái tổ hợp tương đồng nội nhiễm sắc thể giữa các palindrome cùng chứa các amplicon tương đồng và cùng chiều (1). Sự tái tổ hợp của các amplicon gây ra mất đoạn cụ thể như sau (Hình 1):

- AZFb: P5/ vùng gần (so với tâm động) của P1.
- AZFbc: P5/ vùng xa (so với tâm động) của P1 hoặc P4/ vùng xa (so với tâm động) của P1.

Bảng 1: Vị trí, chức năng của các gene đặc trưng trong vùng AZF (5)

Vùng AZF	Tên, kích thước, vị trí gene	Sự biểu hiện	Chức năng
AZFa	USP9Y, 2555aa, Yq11.2	Phôi và mô ở người trưởng thành, có biểu hiện trong tinh hoàn	Tham gia vào quá trình sinh tinh
	DDX3Y, 660aa, Yq11.2	Tinh hoàn, buồng trứng, tử cung, gan, thận, phổi	Nhân tố khởi đầu dịch mã, biến đổi nhân tế bào và ty thể, hình thành phổi.
AZFb	HSFY, 401 aa, Yq11.22	Tinh hoàn, tế bào Sertoli, tế bào sinh tinh	Hoạt hóa phiên mã
	KD5MD, 1539 aa, Yq11	Tinh hoàn, buồng trứng, máu toàn phần, thận	Mã hóa protein histone
	RPS4Y2, 263 aa, Yq11.22	Tinh hoàn, tuyến tiền liệt, máu toàn phần	Tham gia vào quá trình sinh tinh
AZFbc	BPY2, 106 aa, Yq11.223	Tinh hoàn	Phát triển tế bào mầm sinh dục
	RBMV, 391 aa, Yq11.223	Dòng tế bào mầm đang phát triển.	Điều hòa phiên mã
	DAZ, 744 aa, Yq11.223	Nhân tố kiểm soát giữ cho tế bào mầm sinh dục ở giai đoạn pre - meiotic. Thành phần của tinh nguyên bào.	Tham gia vào quá trình sinh tinh, điều hòa dịch mã, điều khiển sự trưởng thành của tinh tử.
	PRY, 147 aa, Yq11.22	Tinh hoàn	Tham gia vào quá trình sinh tinh, apoptosis.
	CDY, 598 aa, Yq11.23	Tinh hoàn	Điều hòa dương đổi với enzyme PRC2.

Bảng 2: Kiểu hình và tỉ lệ của các dạng mất đoạn hoàn toàn trên NST Y (2)

	AZFa	AZFb và AZFbc	AZFc
Kiểu hình lâm sàng	Vô tinh không do bất tật	Vô tinh không do bất tật	Đa dạng. Số lượng tinh trùng có thể thay đổi từ vô tinh (không do bất tật) đến thiếu tinh nhẹ
Đặc điểm tại tinh hoàn	Không trưởng thành tinh trùng. Hầu như chỉ quan sát được tế bào sertoli.	Tinh trùng ngừng trưởng thành tại giai đoạn tinh bào và giai đoạn biệt hóa tinh tử	Đa dạng. Bao gồm từ chỉ có tế bào sertoli đến dạng ngừng trưởng thành
Tỉ lệ thành công khi thu nhận tinh trùng từ tinh hoàn (bằng kỹ thuật TESE, microTESE)	Hoàn toàn không thể tìm thấy tinh trùng	Gần như không thể tìm thấy tinh trùng.	Khả năng tìm thấy tinh trùng từ 50 - 70%
Tỉ lệ mất đoạn	0.5 - 4%	1 - 5% đối với AZFb 1 - 3% đối với AZFbc	80%

- AZFc: b2 và b4 trong palindrome P3 và P1.
- gr/gr: g1/g2, r1/r3, r2/r4.
- Riêng mất đoạn AZFa là kết quả của sự tái tổ hợp tương đồng giữa 2 trình tự tương đồng có nguồn gốc retrovirus, HERV15yq1 và HERV15yq2 (1).

Kiểu hình và tỉ lệ tương ứng của các dạng mất đoạn hoàn toàn được trình bày trong Bảng 2.

Trong khi ảnh hưởng của các dạng mất đoạn hoàn toàn đến khả năng sinh tinh đã có được sự

đồng thuận cao thì mất đoạn không hoàn toàn dạng gr/gr vẫn còn gây tranh cãi rất nhiều. Kiểu hình của người mất đoạn gr/gr biến thiên ở một phổ rộng, từ vô tinh đến người sinh tinh bình thường (nhóm chứng). Có thể nhận thấy rằng, khu vực phân bố của các tộc người ảnh hưởng lớn đến kết quả thí nghiệm: tỉ lệ phát hiện mất đoạn gr/gr trong nhóm chứng ở quần thể người Châu Phi và Châu Á cao và gần như tương đương nhau, trong khi đó tỉ lệ này đều tìm thấy rất thấp ở người Châu Âu và Nam Mỹ (8). Sự sai khác trong hệ gene của các tộc người ở các vùng địa lý khác nhau được ký hiệu bằng các haplogroup khác nhau. Tổ tiên loài người có nguồn gốc từ Châu Phi từ 60.000 đến 100.000 năm trước, trong quá trình kiến tạo lục địa, con người được phân bố, thích nghi, tồn tại ở khắp các châu lục trên Trái đất. Trong hàng vạn năm đó, có những đột biến đơn nucleotide (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) xảy ra trên NST Y, được chọn lọc tự nhiên giữ lại và được truyền từ cha sang con trai. Nhiều cá thể mang cùng một SNP được xếp vào một haplotype và nhóm nhiều cá thể mang một số SNP giống nhau lập nên một haplogroup. Do có sự di cư của các tộc người, chịu những ảnh hưởng khác nhau của môi trường sống nên các haplogroup rất đa dạng. Vì mất đoạn gr/gr, từ tần suất xảy ra đến khả năng tác động lên khả năng sinh sản đều có sự biến đổi nhất quán theo sắc tộc của người dùng làm đối tượng nghiên cứu nên haplogroup trên NST Y được phân tích. Kết quả cho thấy, mất đoạn gr/gr chỉ có thể xảy ra trên một số haplogroup (C, D, N, Q) và các haplogroup này chủ yếu tập trung ở Châu Á (Navarro Costa và cs., 2010).

3. Đặc điểm di truyền của vi mất đoạn NST Y

Thứ nhất, vi mất đoạn NST Y được truyền cho con trai trong quá trình hình thành tế bào mầm sinh dục của người cha hoặc khởi phát theo kiểu de novo (80% các trường hợp) (2). Hầu hết các đột biến xảy ra trong suốt giai đoạn trước thụ tinh, tuy nhiên vẫn có một số ít xảy ra sau thụ tinh. Nếu tinh trùng có mất đoạn NST Y thụ tinh với một trứng bình thường thì bé trai sẽ được di truyền từ cha kiểu mất đoạn NST Y này. Còn nếu đột biến xảy ra sau thụ tinh thì có thể kiểu hình sẽ có dạng thể khảm

với NST Y bình thường trong tế bào bạch cầu và NST Y với kiểu mất đoạn xảy ra sau thụ tinh trong tế bào tinh trùng hoặc tinh hoàn (2). Vì vô sinh là một dạng kiểu hình phổ biến ở người bị đột biến vi mất đoạn NST Y nên sự di truyền tự nhiên từ cha sang con trai rất hiếm khi được ghi nhận. Hầu như đột biến dạng này được truyền từ cha sang con chủ yếu thông qua kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI – Intra-Cytoplasmic Sperm Injection). Nghiên cứu mới nhất của Liu và cộng sự đã phủ nhận khả năng hỗ trợ sinh sản gây tăng tỉ lệ đột biến vi mất đoạn NST Y (9). Tuy nhiên, để khẳng định vẫn cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn, đa dạng về sắc tộc cũng như khảo sát đầy đủ các vùng địa lý hơn.

Thứ hai, mặc dù hầu hết các đột biến mất đoạn NST Y khởi phát theo kiểu de novo, nhưng thông qua ICSI các đột biến này được truyền trực tiếp từ cha sang con trai và có thể truyền nguyên vẹn hoặc đột biến được mở rộng (10).

4. Các phương pháp sàng lọc vi mất đoạn NST Y

- STS – PCR (*Sequence-Tagged Site Polymerase Chain Reaction*)

STS – PCR là phương pháp phổ biến, được sử dụng hơn 2 thập kỷ qua và được xem như tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán vi mất đoạn NST Y. Ưu điểm của phương pháp: ít tốn thời gian, thuận lợi, dễ thực hiện, giá thành thấp. Đến thời điểm này, khoảng 1287 STS marker đã được sử dụng, trong đó 992 marker chỉ có 1 bản sao và 285 marker có nhiều bản sao. Các STS marker được sử dụng phổ biến đặc trưng cho từng vùng AZF được liệt kê trong Bảng 3.

Thiết kế test sàng lọc vi mất đoạn NST Y bằng kỹ thuật STS – PCR dựa trên các nguyên tắc như sau (2):

Bảng 3: Các STS marker được sử dụng phổ biến đặc trưng cho từng vùng AZF (2)

Vi mất đoạn NST Y	STS marker
AZFa	sY83, sY85, sY86, sY84, sY87, sY88, sY90, sY1317, sY1316, sY1324
AZFb	sY114, sY117, sY121, sY127, sY134, sY135, sY142, sY143, sY145, sY280, sY627, sY682, sY1015, sY1161, sY1197, sY1233, sY1237, sY1258, sY1322, sY254, sY1035, sY1191, sY1291, sY1318
AZFc	sY254, sY1035, sY1191, sY1291, sY1318, sY579, sY602, sY639, sY1054, sY1125, sY1190, sY1198, sY1206, sY1263
AZFbc	sY254, sY1035, sY1191, sY1291, sY1318
gr/gr	sY1291, sY1191

* Chọn STS – PCR marker: đặc hiệu cao, không đa hình, marker có thể có một hoặc nhiều bản sao nhưng được giới hạn trong vùng đặc hiệu và có kích thước nhỏ trên NST Y.

* Chọn mẫu bệnh phẩm để tách chiết DNA: như đã trình bày, đột biến có thể xảy ra trước hoặc sau thụ tinh. Nếu đột biến xảy ra sau thụ tinh, sẽ xuất hiện dạng thể khảm, tế bào bạch cầu có thể chứa NST Y bình thường nhưng NST Y của tinh trùng hay tinh hoàn lại bị đột biến mất đoạn. Do đó, mặc dù DNA thu từ bạch cầu (tách chiết DNA từ máu ngoại vi) đơn giản và ít tốn kém hơn nhưng DNA từ tinh trùng hoặc mô tinh hoàn vẫn có giá trị chẩn đoán chính xác nhất để sàng lọc tất cả các loại mất đoạn NST Y.

• Bên cạnh đó, một số phương pháp khác cũng được triển khai nhằm tăng khả năng tầm soát tất cả các dạng vi mất đoạn NST Y như: SAT (*suspension array technology*) (11), aCGH (*array-comparative genomic hybridization*) (12). Tuy nhiên, cả hai

phương pháp đều có nhược điểm lớn là điều kiện lai giữa DNA bản mẫu với các mẫu dò đặc hiệu không ổn định, khó tối ưu hóa và vẫn cần nhiều nghiên cứu hơn để đánh giá độ nhạy, độ đặc hiệu lâm sàng của các phương pháp này (2).

5. Kết luận

Vi mất đoạn NST Y là nguyên nhân gây thiếu tinh hoặc vô tinh dẫn đến vô sinh chiếm tỉ lệ cao, chỉ đứng sau hội chứng Klinefelter. Tầm soát vi mất đoạn NST Y cho nam giới bị thiếu tinh nặng hoặc không có tinh trùng không chỉ có ý nghĩa trong việc xác định chính xác nguyên nhân vô sinh, can thiệp điều trị có hiệu quả mà còn là thông tin tư vấn tối cần thiết trước khi thực hiện điều trị sâu hơn như ICSI hay TESE để giúp bệnh nhân có con bằng chính tinh trùng của mình và hiểu rõ nguy cơ di truyền cho con trai. Phương pháp tầm soát vi mất đoạn NST Y dựa trên kỹ thuật PCR - đây là một kỹ thuật đơn giản, ít tốn kém, có thể áp dụng rộng rãi.

Tài liệu tham khảo

1. Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, Tüttelmann F. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*. 2014 Jan;2(1):5–19.
2. Yu X-W, Wei Z-T, Jiang Y-T, Zhang S-L. Y chromosome azoospermia factor region microdeletions and transmission characteristics in azoospermic and severe oligozoospermic patients. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Sep 15;8(9):14634–46.
3. Navarro-Costa P, Plancha CE, Gonçalves J, Alves J, o. Genetic Dissection of the AZF Regions of the Human Y Chromosome: Thriller or Filler for Male (In)fertility? *BioMed Res Int*. 2010 Jun 30;2010:e936569.
4. Vog PH, Edelmann A, Kirsch S, Henegariu O, Hirschmann P, Kiesewetter F, et al. Human Y Chromosome Azoospermia Factors (AZF) Mapped to Different Subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*. 1996 Jul 1;5(7):933–43.
5. Dhanoa JK, Mukhopadhyay CS, Arora JS. Y-chromosomal genes affecting male fertility: A review. *Vet World*. 2016 Jul;9(7):783–91.
6. Repping S, Skaletsky H, Brown L, van Daalen SKM, Korver CM, Pyntikova T, et al. Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome persists through balance between recurrent mutation and haploid selection. *Nat Genet*. 2003 Nov;35(3):247–51.
7. Krausz C, Giachini C, Xue Y, O'Bryan MK, Gromoll J, Rajpert-de Meyts E, et al. Phenotypic variation within European carriers of the Y-chromosomal gr/gr deletion is independent of Y-chromosomal background. *J Med Genet*. 2009 Jan;46(1):21–31.
8. Navarro-Costa P, Plancha CE, Gonçalves J. Genetic dissection of the AZF regions of the human Y chromosome: thriller or filler for male (in) fertility? *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:936569.
9. Liu X-H, Yan L-Y, Lu C-L, Li R, Zhu X-H, Jin H-Y, et al. ART do not increase the risk of Y-chromosome microdeletion in 19 candidate genes at AZF regions. *Reprod Fertil Dev*. 2014;26(6):778–86.
10. Dai R-L, Sun L-K, Yang X, Li L-L, Zhu H-B, Liu R-Z. Expansion and de novo occurrence of Y chromosome microdeletions occurring via natural vertical transmission in northeastern China. *J Int Med Res*. 2012;40(3):1182–91.
11. Sun K, Chen X-F, Zhu X-B, Hu H-L, Zhang W, Shao F-M, et al. A new molecular diagnostic approach to assess Y chromosome microdeletions in infertile men. *J Int Med Res*. 2012;40(1):237–48.
12. Yuen RKC, Merkoulivitch A, MacDonald JR, Vlasschaert M, Lo K, Grober E, et al. Development of a high-resolution Y-chromosome microarray for improved male infertility diagnosis. *Fertil Steril*. 2014 Apr;101(4):1079–1085.e3.