

Kỹ thuật Multiplex-PCR khuếch đại trình tự lặp lại ngắn (STR) trong phân tích di truyền liên kết gen *GAA* ứng dụng trong chẩn đoán bệnh Pompe

Nguyễn Văn Phong¹, Triệu Tiến Sang^{1*}, Trần Văn Khoa¹, Nguyễn Thị Việt Hà¹, Nguyễn Hà Hương Ly¹, Lê Văn Hải²

¹Bộ môn Sinh học - Di truyền y học, Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, phường Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

²Bộ môn Y cơ sở - Phân hiệu Trường Đại học Y Hà Nội tại Thanh Hóa, 722 Quang Trung, phường Hạc Thành, tỉnh Thanh Hóa, Việt Nam

Ngày nhận bài 1/7/2025; ngày chuyển phản biện 5/7/2025; ngày nhận phản biện 19/7/2025; ngày chấp nhận đăng 25/7/2025

Tóm tắt:

Mục tiêu: Hoàn thiện kỹ thuật Multiplex-PCR khuếch đại đồng thời các chỉ thị trình tự lặp lại ngắn (STR) gần gen *GAA*, phục vụ phân tích di truyền liên kết chẩn đoán bệnh Pompe. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu thực hiện trên một gia đình gồm bố, mẹ và ba người con, trong đó một người con mắc bệnh Pompe, mang biến thể đồng hợp tử của gen *GAA*: c.1933G>C (p.Asp645His). Phản ứng Multiplex-PCR được tối ưu khuếch đại đồng thời các STR gần *GAA*, điện di mao quản phân tích kiểu gen STR và so sánh đối chiếu với kết quả giải trình tự Sanger. **Kết quả:** Đã hoàn thiện thành công kỹ thuật Multiplex-PCR khuếch đại 6 STR: D17S802, D17S1806, D17S784, D17S928, D17S78.0 và D17S78.57. Kết quả điện di mao quản cho thấy, các STR được khuếch đại đặc hiệu, tín hiệu rõ ràng. Phân tích kiểu gen STR phù hợp với kết quả giải trình tự Sanger. **Kết luận:** Đã hoàn thiện kỹ thuật Multiplex-PCR khuếch đại STR liên kết gen *GAA* phục vụ phân tích di truyền liên kết. Kỹ thuật có tiềm năng ứng dụng trong chẩn đoán di truyền tiền lâm tổ bệnh Pompe.

Từ khóa: bệnh Pompe, gen *GAA*, Multiplex-PCR, trình tự lặp lại ngắn.

Chỉ số phân loại: 1.6, 3.1, 3.5

Multiplex-PCR amplification of short tandem repeat (STR) for *GAA* gene linkage analysis in Pompe disease diagnosis

Van Phong Nguyen¹, Tien Sang Trieu^{1*}, Van Khoa Tran¹, Thi Viet Ha Nguyen¹, Ha Huong Ly Nguyen¹, Van Hai Le²

¹Department of Biology and Medical Genetics, Vietnam Military Medical University, 160 Phung Hung Street, Ha Dong Ward, Hanoi, Vietnam

²Department of Basic Medical Sciences, Hanoi Medical University - Thanh Hoa Campus, 722 Quang Trung Street, Hac Thanh Ward, Thanh Hoa Province, Vietnam

Received 1 July 2025; revised 19 July 2025; accepted 25 July 2025

Abstract:

Objective: To establish and refine a Multiplex-PCR protocol for the simultaneous amplification of short tandem repeat (STR) markers closely linked to the *GAA* gene, enabling linkage-based genetic diagnosis of Pompe disease. **Subjects and methods:** The study was conducted on a nuclear family comprising a father, mother, and three children, one of whom had Pompe disease and carried the homozygous *GAA* gene variant c.1933G>C (p.Asp645His). A Multiplex-PCR assay was optimised to simultaneously amplify multiple STR markers flanking the *GAA* locus. STR genotyping was performed by capillary electrophoresis and compared with Sanger sequencing results. **Results:** The optimised Multiplex-PCR assay successfully amplified six STR markers: D17S802, D17S1806, D17S784, D17S928, D17S78.0, and D17S78.57. Capillary electrophoresis revealed specific amplification of the STR markers with clear signal profiles. The STR genotyping results were fully concordant with the Sanger sequencing results. **Conclusion:** A Multiplex-PCR method for the amplification of STR markers linked to the *GAA* gene was successfully established for linkage analysis. This technique has potential applications in preimplantation genetic diagnosis of Pompe disease.

Keywords: *GAA* gene, Multiplex-PCR, Pompe disease, short tandem repeat.

Classification numbers: 1.6, 3.1, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: trieusangk83@yahoo.com.vn

1. Đặt vấn đề

Bệnh Pompe (OMIM #232300) là bệnh rối loạn dự trữ glycogen, di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường. Bệnh gây ra do bất thường gen *GAA* làm thiếu hụt enzyme alpha-glucosidase dẫn đến tích tụ glycogen trong lysosome tế bào, gây tổn thương cơ tim, cơ xương và nhiều cơ quan khác. Biểu hiện lâm sàng điển hình là suy tim phì đại, giảm trương lực cơ, suy hô hấp (thể khởi phát sớm - IOPD), yếu cơ tiến triển ở thể muộn (LOPD) [1, 2]. Hiện nay, liệu pháp thay thế enzyme (ERT) đã giúp cải thiện tiên lượng bệnh, song chi phí điều trị rất cao vẫn là gánh nặng lớn đối với gia đình người bệnh và hệ thống y tế. Vì vậy, chiến lược dự phòng bệnh thông qua phát hiện sớm người mang gen bệnh, chẩn đoán trước sinh và chẩn đoán di truyền tiền làm tổ (PGD) trong các gia đình có nguy cơ trở nên ngày càng cần thiết.

Gen *GAA* nằm trên nhánh dài nhiễm sắc thể 17 (17q25.3), các biến thể gây giảm hoặc mất chức năng của enzyme alpha-glucosidase rất đa dạng bao gồm các biến thể sai nghĩa, vô nghĩa, biến thể mất đoạn, chèn đoạn, biến thể lặp đoạn, biến thể cắt nối... dẫn đến phổ kiểu hình bệnh rộng từ IOPD đến LOPD. Bao quanh vùng gen *GAA* tồn tại nhiều đa hình di truyền như đa hình đơn nucleotide (SNP) và các STR. Các SNP có mật độ phân bố cao trên bộ gen nhưng thường chỉ có hai alen, mức đa hình thấp và tần suất dị hợp tử hạn chế. Ngược lại, một số STR lại có số lượng alen phong phú và độ dị hợp tử cao, nhờ đó mang tính “cá thể hóa” vượt trội khi sử dụng làm dấu ấn di truyền trong phân tích liên kết.

Các phương pháp hiện nay dùng để phân tích biến thể và đa hình liên quan đến *GAA* bao gồm: Giải trình tự Sanger để phát hiện trực tiếp các biến thể điểm, MLPA hoặc qPCR để phát hiện mất/lặp đoạn, giải trình tự gen thể hệ mới (NGS) để khảo sát toàn bộ gen cùng các SNP liên kết, và Multiplex-PCR khuếch đại STR để phân tích di truyền liên kết. Mặc dù giải trình tự trực tiếp (Sanger hoặc NGS) đóng vai trò trung tâm trong xác định biến thể gây bệnh, các kỹ thuật này vẫn có hạn chế khi áp dụng cho PGD bởi lượng vật chất di truyền ít và nguy cơ mất alen (ADO). Phân tích SNP có thể hỗ trợ thiết lập haplotype, nhưng do mức đa hình thấp nên SNP đơn lẻ thường không đủ thông tin, việc xây dựng haplotype SNP yêu cầu phân tích rất nhiều vị trí và đòi hỏi thuật toán phức tạp hơn.

Kỹ thuật phân tích di truyền liên kết dựa trên các chỉ thị STR là phương pháp chẩn đoán gián tiếp có giá trị cao nhờ khả năng phân biệt nhiều alen, dễ thiết kế Multiplex, chi phí thấp và mức độ tin cậy cao. Phương pháp này dựa trên nguyên lý các alen STR nằm gần gen mục tiêu có xu hướng di truyền cùng nhau trong phả hệ, từ đó cho phép xác định gián tiếp biến thể gen bệnh qua kiểu gen STR của các thành viên gia đình. Kỹ thuật này còn giúp kiểm soát mất alen, khuếch đại ưu tiên và ngoại nhiễm, điều mà chẩn đoán trực tiếp dễ bỏ sót và gây chẩn đoán sai trong PGD [3].

Hiện tại, chưa có bộ chỉ thị STR thương mại nào được thiết kế chuyên biệt cho bệnh Pompe, trong khi các bệnh đơn gen phổ biến khác như beta-thalassemia hay hemophilia A đã có những bộ kit STR phân tích liên kết được thương mại hóa. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm hoàn thiện kỹ thuật Multiplex-PCR khuếch đại đồng thời 6 STR nằm gần gen *GAA* trên đối tượng các thành viên của một gia đình có con mắc bệnh Pompe, từ đó xây dựng tiền đề cho phân tích di truyền liên kết trong PGD bệnh Pompe.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu là 5 thành viên trong một gia đình gồm bố, mẹ và ba người con, trong đó có một người con trai mắc bệnh Pompe đã được xác định mang kiểu gen đồng hợp biến thể *GAA*: c.1933G>C (p.Asp645His) bằng NGS.

Nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức của Học viện Quân y thông qua với mã số hội đồng: 1068/2019/VMMU-IRB. Các thành viên/cha mẹ và người giám hộ đã đồng ý tham gia nghiên cứu, dữ liệu đã được mã hóa bảo mật.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

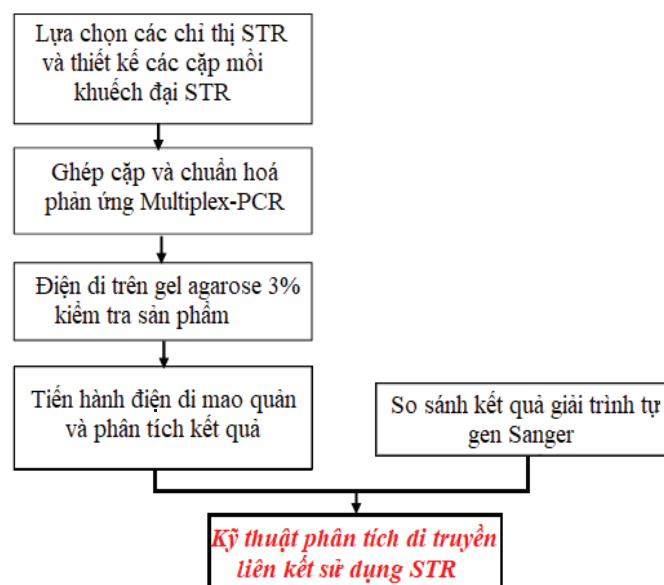
Phản ứng Multiplex-PCR khuếch đại các STR liên kết với gen *GAA*: Dựa trên khoảng cách để tiến hành lựa chọn 6 STR liên kết gen *GAA*. Các cặp mồi đặc hiệu được tham khảo trong cơ sở dữ liệu UCSC Genome Browser hoặc nhóm nghiên cứu tự thiết kế bằng phần mềm Primer BLAST (NCBI) (bảng 1).

Phản ứng gradient - PCR được thực hiện để xác định nhiệt độ gắn mồi tối ưu cho từng STR. Dựa trên kích thước để ghép cặp và tối ưu hai bộ phản ứng Multiplex-PCR để khuếch đại 3 STR trong mỗi bộ phản ứng.

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi sử dụng khuếch đại các STR.

STR	Trình tự	Loại trình tự lặp	Kích thước (bp)	Khoảng cách đến gen <i>GAA</i> (vị trí theo GRCh38/hg38)	Nguồn
D17S802 (AFM210XA5)	5'-/FAM/-GCCACCTGCCCCTCAA-3' 5'-CTGCCAGCAGAGGCCA-3'	(GT) _n	~ 196	1,8 cM (78.238.445- 78.238.716)	UCSC Genome Browser
D17S1806 (AFMA238YB5)	5'-/FAM/-GATGTGCTTATTTGAAACCTGC-3' 5'-TGTAACGTCCACCAGCAGAG-3'	(CA) _n	~131	0,6 cM (79.449.450-79.449.737)	UCSC Genome Browser
D17S784 (AFM044XG3)	5'-/FAM/-GAGTCTCCTAAATGCTGGGG-3' 5'-AGCTCTGCACAGTTCTTAAATA-3'	(TC) _n (CA) _m	~252	0,3 cM (79.828.322-79.828.625)	UCSC Genome Browser
D17S78.0	5'-/FAM/-TGGGTGACAGAGCTGGAC-3' 5'-AGCAGTTTATGTTGGGAAAG-3'	(CA) _n	~122	0,02 cM (80.127.616-80.127.719)	Thiết kế bởi nhóm nghiên cứu
D17S78.57	5'-/FAM/-TATCCAGAAGAGCTGCTCAGT-3' 5'-AGGTTGAGGCTGCAGTGATC-3'	(CTAT) _n	~232	0,48 cM (80.598.784-80.598.998)	Thiết kế bởi nhóm nghiên cứu
D17S928 (AFM217YD10)	5'-/FAM/-TAAAACGGCTACAACACATACA-3' 5'-ATTTCCCACTGGCTG-3'	(GT) _n	~167	2,2 cM (82.294.963-82.295.264)	UCSC Genome Browser

Phân tích STR di truyền liên kết gen *GAA*: Sản phẩm phản ứng Multiplex-PCR được điện di gel agarose 3% kiểm tra. Sau đó tiến hành điện di mao quản trên máy SeqStudio (Thermo Fisher Scientific, Mỹ). Phân tích kích thước alen bằng phần mềm GeneMapper ID 6.0. Thống kê kích thước sản phẩm khuếch đại (các alen) trên các locus STR của các cá nhân, từ đó so sánh và đánh giá sự di truyền liên kết của các STR với biến thể gen gây bệnh (hình 1).



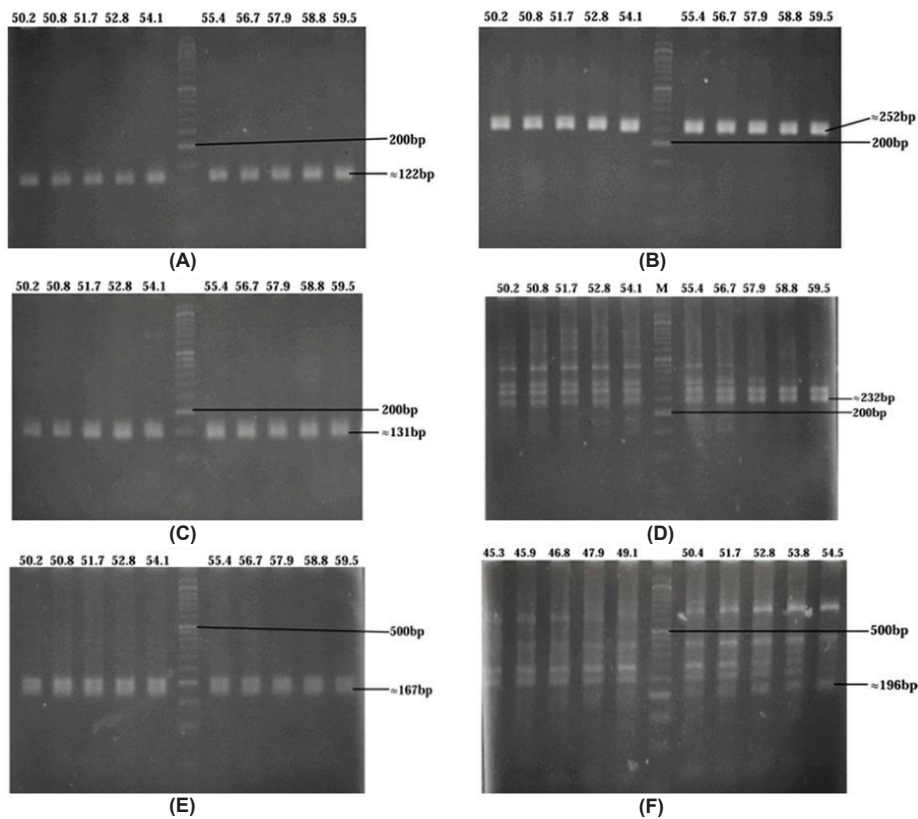
Hình 1. Sơ đồ nghiên cứu.

Giải trình tự gen Sanger: Phản ứng PCR khuếch đại đoạn trình tự dài 230 bp chứa biến thể gen *GAA*: c.1933G>C (p.Asp645His) sử dụng cặp mồi có trình tự sau: *GAA*-f: 5'-TGAGGACCAGCCTGACTCT-3'; *GAA*-r: 5'-CTTGGGTGGGTGGGATCG-3'. Sản phẩm khuếch đại được giải trình tự bằng bộ kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Thermo Fisher Scientific, Mỹ) trên máy SeqStudio (Thermo Fisher Scientific, Mỹ). Trình tự nucleotide của mỗi đoạn gen được xác định bằng phần mềm BioEdit Sequence Alignment Editor nhằm xác định biến thể gen *GAA*:c.1933G>C, so sánh kiểm chứng kết quả phân tích di truyền liên kết.

3. Kết quả

3.1. Kết quả chuẩn hóa phản ứng Multiplex-PCR

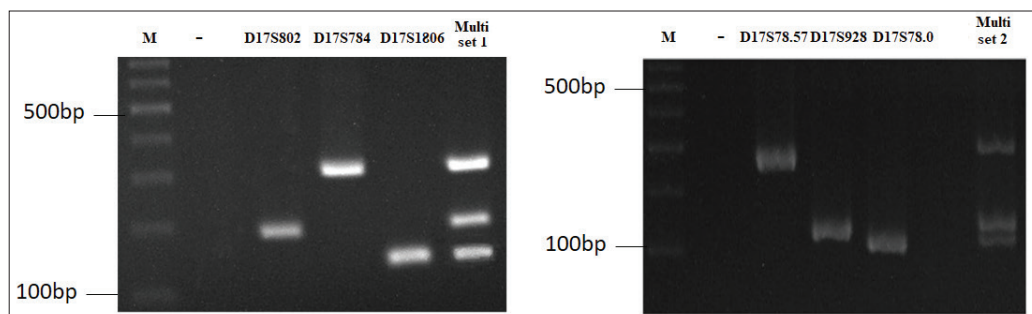
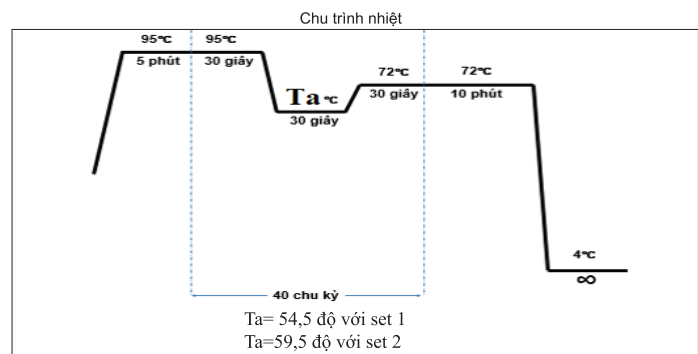
Dựa vào kết quả chạy Gradient-PCR, nghiên cứu lựa chọn được dải nhiệt độ khuếch đại phù hợp cho từng STR là các dải nhiệt độ mà tại đó băng lên rõ nét, đúng kích thước và không có băng phụ (hình 2). Dựa trên dải nhiệt độ gắn mồi và kích thước các đoạn mồi đã thiết kế, tiến hành ghép cặp 3 bộ STR với nhau trong cùng một phản ứng: set 1 gồm 3 STR: D17S802, D17S1806 và D17S784; set 2 gồm 3 STR: D17S928, D17S78.0 và D17S78.57.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm phản ứng Gradient-PCR khuếch đại các STR. (A) STR D17S78.0; (B) STR D17S784; (C) STR D17S1806; (D) STR D17S78.57; (E) STR D17S928; (F) STR D17S802. Nhiệt độ gắn mỗi của từng cặp được chú thích trên các giếng như hình; M: marker 50 bp.

Bảng 2. Thành phần phản ứng Multiplex-PCR.

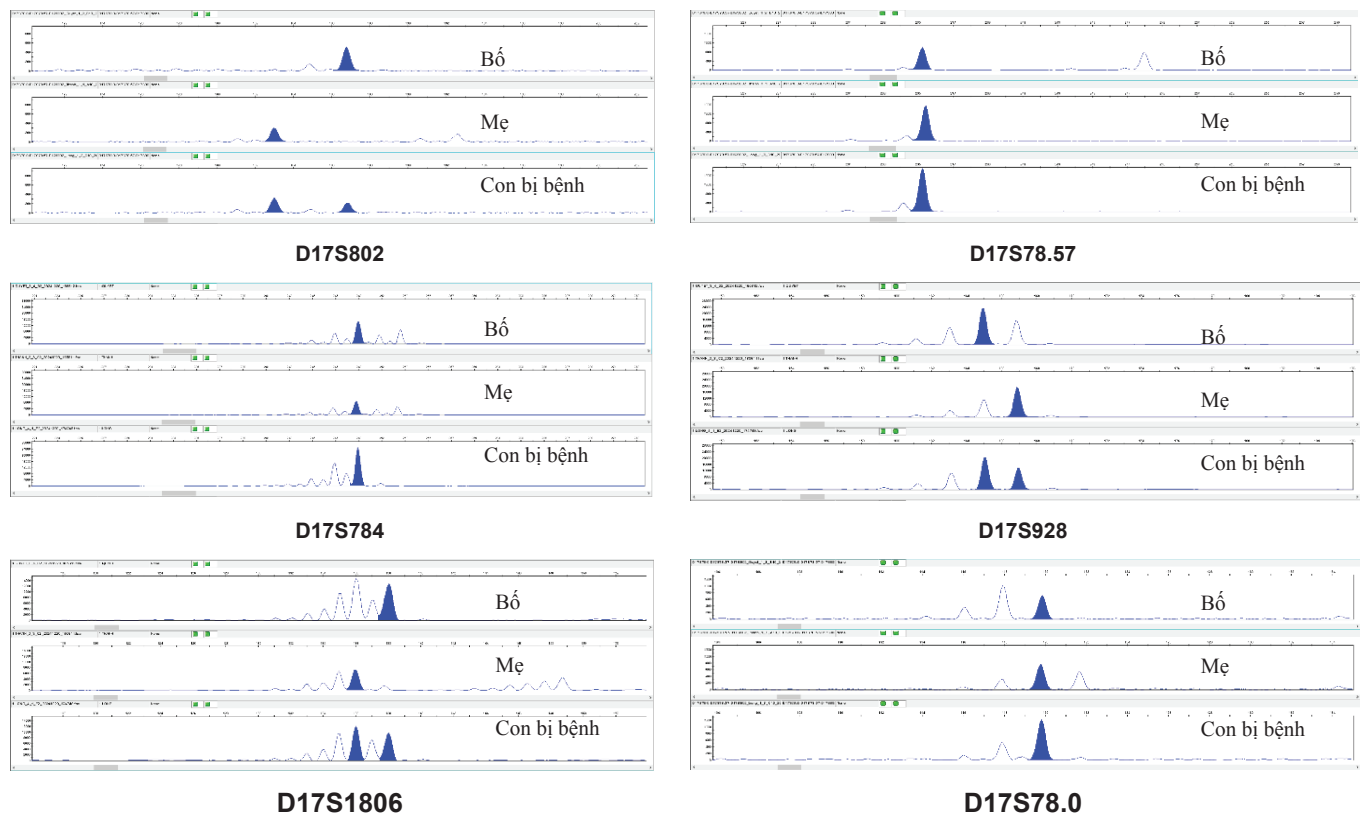
Thành phần	Thể tích (μl)
MyTaq HS Mix 2X	12,5
Nước deion	4,5
Mỗi mỗi F	0,5
Mỗi mỗi R	0,5
Template DNA	5,0
Tổng	25,0



Hình 3. Kết quả điện di gel agarose kiểm tra sản phẩm phản ứng Multiplex-PCR.

Chuẩn hoá phản ứng Multiplex-PCR với thành phần mỗi mỗi có nồng độ như nhau (10 pmol/μl). D17S802 có nhiệt độ nóng chảy của mỗi thấp hơn các STR khác, dẫn đến dải nhiệt tối ưu 45,3-54,5°C. Do sự khác biệt đáng kể về T_m , nhóm STR này không thể ghép chung với các STR có T_m cao (56-60°C). Vì vậy, các STR được nghiên cứu chia thành hai set dựa trên sự tương đồng về nhiệt độ gắn mỗi và kích thước sản phẩm. Nhiệt độ 54,5°C được chọn cho set 1 vì đây là mức nhiệt cao nhất mà D17S802 vẫn khuếch đại đặc hiệu đồng thời đảm bảo cho D17S1806 và D17S784. Ngược lại, set 2 được tối ưu ở 59,5°C - mức nhiệt phù hợp cho cả D17S928, D17S78.0 và D17S78.57 (bảng 2).

Kết quả điện di sản phẩm của hai bộ phản ứng Multiplex-PCR cho thấy các băng sản phẩm rõ nét, phân tách tốt, khuếch đại đặc hiệu đúng kích thước thiết kế và không xuất hiện băng phụ (hình 3).

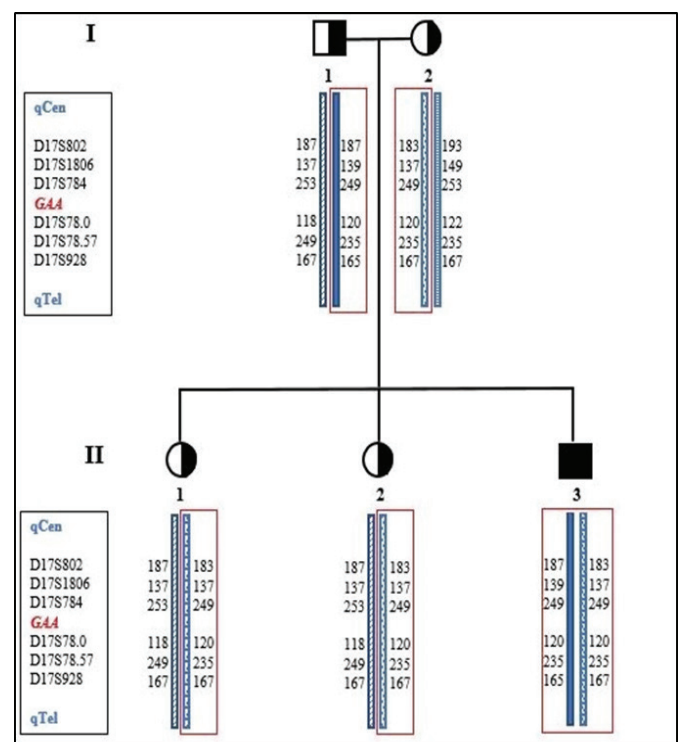


Hình 4. Kết quả điện di mao quản sản phẩm phản ứng Multiplex-PCR trên các mẫu bố, mẹ và con bị bệnh. Các alen đánh dấu màu xanh: Alen liên kết với biến thể gen gây bệnh.

Tất cả các phản ứng Multiplex-PCR này đã được lặp lại ba lần độc lập, đảm bảo tính nhất quán và độ tin cậy của kết quả.

3.2. Kết quả phân tích di truyền liên kết

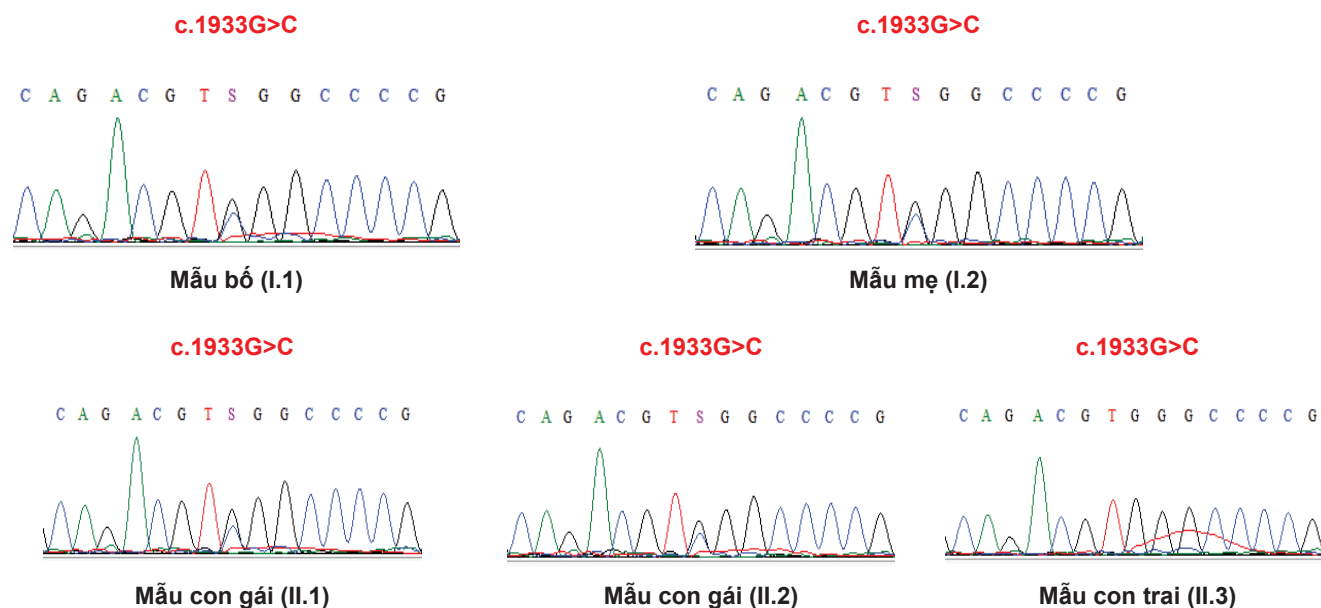
Dựa vào kết quả NGS đã xác định người con bị bệnh mang kiểu gen đồng hợp tử biến thể gen *GAA*: c.1933G>C (p.Asp645His) gây bệnh Pompe, tiến hành phân tích dữ liệu kiểu gen STR tại các locus giữa người con bị bệnh (II.3) và bố mẹ (I.1 và I.2) để suy luận các alen liên kết với biến thể (hình 4). Các sản phẩm PCR của từng locus được phân tích bằng điện di mao quản, với các đỉnh tín hiệu (peak) thể hiện kích thước mảnh khuếch đại (bp) do phần mềm nhận diện sau khi so sánh với thang chuẩn. Tại locus D17S802, người con bị bệnh mang hai alen 183 bp và 187 bp, như vậy các alen liên kết biến thể gen gây bệnh là các alen 187 bp được di truyền từ bố và alen 183 bp di truyền từ mẹ. Quy trình tương tự được áp dụng cho các locus khác, xác định được các alen STR liên kết với biến thể *GAA*:c.1933G>C di truyền từ bố và mẹ lần lượt là: 139 bp và 137 bp (D17S1806), 249 bp và 249 bp (D17S784), 120 bp và 120 bp (D17S78.0), 235 bp và 235 bp (D17S78.57), 165 bp và 167 bp (D17S928). Từ các locus này, hai haplotype liên kết với biến thể gây bệnh được xác định, tương ứng di truyền từ bố và mẹ.



Hình 5. Sơ đồ phân tích STR di truyền liên kết gen *GAA* của gia đình. Haplotype được đóng khung đỏ: Haplotype STR liên kết với biến thể gen *GAA* gây bệnh.

Đối chiếu haplotype mang biến thể gen gây bệnh đã xác định trên hai người con gái (II.1 và II.2), có thể suy luận hai đối tượng này là người lành mang biến thể gen *GAA*: c.1933G>C (p.Asp645His) có nguồn gốc di truyền từ mẹ (hình 5).

truyền. Do chưa có dữ liệu về các chỉ số di truyền của các STR trong quần thể người Việt Nam, nhóm nghiên cứu đã tham khảo các nghiên cứu khác trên thế giới. Công trình của I.L. Marks và cs (2019) [4] khảo sát 15 STR trên nhiễm sắc thể 17, trong đó ba chỉ thị D17S802, D17S784



Hình 6. Kết quả giải trình tự gen Sanger trên các mẫu của gia đình.

So sánh các kết quả phân tích di truyền liên kết với dữ liệu giải trình tự Sanger xác định biến thể *GAA*: c.1933G>C (p.Asp645His) cho thấy hoàn toàn trùng khớp ở các mẫu (hình 6). Như vậy, kỹ thuật Multiplex-PCR khuếch đại STR liên kết với gen *GAA* đã được hoàn thiện, đảm bảo độ chính xác.

4. Bàn luận

Kỹ thuật phân tích di truyền liên kết được xây dựng dựa trên việc lựa chọn 6 chỉ thị STR nằm gần gen *GAA* trên nhánh dài nhiễm sắc thể số 17. Việc lựa chọn các STR này dựa trên hiện tượng các locus gần nhau trên cùng một nhiễm sắc thể có xu hướng được di truyền cùng nhau do ít khả năng xảy ra trao đổi chéo trong kỳ đầu giảm phân I. Khoảng cách giữa các STR và gen *GAA* trong nghiên cứu giới hạn dưới 2,2 Mbp về hai phía nhằm giảm nguy cơ tái tổ hợp, đảm bảo mức độ liên kết cao giữa chỉ thị và biến thể gen gây bệnh, từ đó nâng cao độ chính xác của phương pháp phân tích di truyền liên kết.

Các STR được lựa chọn cần đảm bảo có chỉ số đa hình và tần suất dị hợp tử cao, nhằm tăng khả năng phân biệt giữa các cá thể và khả năng xác định nguồn gốc di

và D17S928 được tác giả cho rằng có tiềm năng ứng dụng trong phân tích liên kết với gen *GAA*. Ngoài ba chỉ thị nêu trên, chỉ thị D17S1806 từng được các nghiên cứu sử dụng để hỗ trợ phân tích haplotype các gia đình có người mắc bệnh Moyamoya nhằm xác định vùng gen liên quan đến bệnh (mapping gene) [5, 6]. Do đó, nghiên cứu lựa chọn D17S1806 bởi chỉ thị này có thể có tính đa hình cao và hỗ trợ trong xác định haplotype mang alen bệnh. Trong nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam về PGD bệnh Pompe vào năm 2023, có ba STR đã được sử dụng nhưng hiệu quả phân tích còn giới hạn bởi số lượng và trạng thái đồng hợp tử ở một locus [7]. Từ đó, nghiên cứu hiện tại đã nâng số lượng STR lên 6 chỉ thị, tăng khả năng phân biệt cá thể và cải thiện độ chính xác của phương pháp.

Các STR được thiết kế khuếch đại bằng hai phản ứng Multiplex-PCR, giúp đơn giản hóa quy trình kỹ thuật, giảm thời gian thực hiện và hạn chế nguy cơ sai sót thao tác hoặc nhiễm chéo so với phương pháp PCR đơn mỗi. Ưu điểm này không chỉ góp phần tối ưu hóa nguồn lực và chi phí vận hành mà còn làm tăng khả năng ứng dụng

rộng rãi. Kết quả chẩn đoán từ mẫu nghiên cứu phù hợp hoàn toàn với kết quả giải trình tự Sanger, khẳng định tính chính xác và giá trị thực tiễn của bộ phản ứng Multiplex-PCR được xây dựng. Kỹ thuật được hoàn thiện trong nghiên cứu này góp phần đặt nền tảng cho việc phát triển các công cụ phục vụ PGD bệnh Pompe tại Việt Nam.

Tuy nhiên, do chưa có dữ liệu di truyền quần thể đầy đủ về các STR tại Việt Nam nên hiệu quả phân biệt cá thể của một số STR được lựa chọn trong quần thể này có thể chưa tối ưu. Bên cạnh đó, nghiên cứu chưa khảo sát các mẫu từ các nhóm dân tộc khác nhau, vì vậy hiệu quả phân tích trong các quần thể khác vẫn cần được kiểm chứng. Những hạn chế này sẽ là cơ sở quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tối ưu hóa và mở rộng ứng dụng của phương pháp trong chẩn đoán di truyền liên kết bệnh Pompe.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã hoàn thiện thành công hai quy trình Multiplex-PCR phục vụ phân tích di truyền liên kết gen *GAA*, khuếch đại đồng thời 6 STR với nhiệt độ gắn mỗi tối ưu lần lượt là 54,5 và 59,5°C, cho kết quả ổn định và chính xác. Kỹ thuật có tiềm năng ứng dụng trong chẩn đoán di truyền tiền lâm tổ bệnh Pompe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] F. Manganelli, L. Ruggiero (2013), "Clinical features of Pompe disease", *Acta Myologica*, **32(2)**, pp.82-84.
- [2] C.D. Vu, N.N. Khanh (2021), "Genotype and phenotype of infantile-onset Pompe disease at the National Children's Hospital", *Vietnam Medical Journal*, **498(2)**, pp.57-69 (in Vietnamese).
- [3] ESHRE PGT-M Working Group, F. Carvalho, C. Moutou, et al. (2020), "ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders", *Human Reproduction Open*, **2020(3)**, DOI: 10.1093/hropen/hoaa018.
- [4] I.L. Marks, G.M.S. Bolman, S.L.I. Groen, et al. (2019), "Segmental and total uniparental isodisomy (UPID) as a disease mechanism in autosomal recessive lysosomal disorders: Evidence from SNP arrays", *European Journal of Human Genetics*, **27(6)**, pp.919-927, DOI: 10.1038/s41431-019-0348-y.
- [5] R. Mertens, M. Graupera, H. Gerhardt, et al. (2022), "The genetic basis of moyamoya disease", *Translational Stroke Research*, **13(1)**, pp.25-45, DOI: 10.1007/s12975-021-00940-2.
- [6] J. Fang, X. Yang, J. Ni (2024), "RNF213 in moyamoya disease: Genotype-phenotype association and the underlying mechanism", *Chinese Medical Journal*, **137(21)**, pp.2552-2560, DOI: 10.1097/CM9.0000000000002985.
- [7] T.T. Nguyen, T.T. Sang, V.K. Tran, et al. (2023), "Preimplantation genetic testing and prenatal diagnosis of Pompe disease", *Vietnam Medical Journal*, **527(2)**, pp.66-80 (in Vietnamese).