

NGHIÊN CỨU VAI TRÒ CỦA ĐA HÌNH GEN *TDRD9* rs2273841 ĐỐI VỚI BỆNH VÔ SINH NAM Ở NGƯỜI VIỆT NAM

Nguyễn Thùy Dương^{1,2,✉}, Lê Đức Duy¹, Dương Thị Thu Hà¹

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: tdnguyen@igr.ac.vn

Ngày nhận bài: 29.11.2020

Ngày nhận đăng: 15.02.2021

TÓM TẮT

Vô sinh ở nam giới là một quá trình rất phức tạp gây ra bởi nhiều yếu tố trong đó có yếu tố gen di truyền. Quá trình hình thành tinh trùng cũng rất phức tạp có rất nhiều gen tham gia, trong đó có các RNA tương tác với protein PIWI (P-element-induced wimpy testis) (piRNA). Gen *TDRD9* đóng vai trò quan trọng đối với sự tổng hợp piRNA. Đột biến gen này được chứng minh gây bệnh vô sinh nam. Tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đánh giá ảnh hưởng của đa hình gen *TDRD9* đối với bệnh vô sinh nam. Trong bài báo này, mối liên quan của đa hình gen *TDRD9* rs2273841 với bệnh vô sinh nam đã được nghiên cứu ở người Việt Nam. DNA tổng số được tách chiết từ 324 mẫu nghiên cứu người Việt Nam (gồm 164 mẫu vô sinh nam và 160 mẫu đối chứng có ít nhất một con). Kiểu gen của đa hình gen *TDRD9* rs2273841 được xác định bằng phương pháp PCR-RFLP. Chi-Square được sử dụng để đánh giá sự phân bố kiểu gen của đa hình tuân theo định luật Hardy-Weinberg. Mối liên hệ giữa đa hình với bệnh vô sinh nam được đánh giá nhờ sử dụng Chi-Square và Fisher's exact. Kết quả phân tích cho thấy sự phân bố kiểu gen của đa hình gen rs2273841 tuân theo định luật Hardy-Weinberg trên nhóm chứng ($p>0,05$). Tuy nhiên, không tìm thấy mối liên quan giữa đa hình gen *TDRD9* rs2273841 với nguy cơ mắc bệnh vô sinh nam ($p>0,05$). Đây là tiền đề quan trọng cho các nghiên cứu tiếp theo về mối liên quan của gen *TDRD9* với bệnh vô sinh nam ở quần thể người Việt Nam sau này.

Từ khóa: PCR-RFLP, rs2273841, *TDRD9*, Việt Nam, vô sinh nam.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Vô sinh nam chiếm tỷ lệ hơn 30% trong các trường hợp vô sinh (Jarow, 2007). Trong đó, hiện tượng thường gặp nhất là không có tinh trùng trong tinh dịch (chiếm khoảng 15%) và được gọi là vô sinh không có tinh trùng (azoospermia) (Jarvi *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011). Azoospermia được chia ra làm hai loại: vô tinh không do tắc nghẽn (non-obstructive azoospermia - NOA) chiếm khoảng 60% và vô tinh do tắc nghẽn chiếm khoảng 40%. Trong đó, ống dẫn tinh bị tắc nghẽn sẽ làm cản trở khả năng di chuyển của tinh trùng mặc dù quá trình sinh tinh vẫn diễn ra bình thường (Ma *et al.*, 2013).

Quá trình sinh tinh là một quá trình phức tạp với sự tham gia của hàng nghìn gen, trong đó đột biến ở một gen bất kỳ sẽ gây sai hỏng của quá trình này và dẫn tới vô sinh nam (Zhou *et al.*, 2009). Các gen này là yếu tố sinh học chủ yếu gây đột biến tạo nên sự mất ổn định của hệ gen dòng mầm (Slotkin, Martienssen,

2007). Động vật có vú có khả năng bảo vệ bản thân khỏi các yếu tố gây đột biến này thông qua các RNA có kích thước nhỏ không mã hoá đưa các phức hệ tác động (effector complex) như các protein thuộc họ Argonaute đến các mRNA đích để kiểm soát hoạt động phiên mã và dịch mã của chúng. Protein PIWI thuộc Argonaute chỉ tồn tại ở tế bào mầm (Aravin *et al.*, 2006; Girard *et al.*, 2006; Watanabe *et al.*, 2006). Ở chuột, protein Piwi được chứng minh là có vai trò quan trọng đối với khả năng sinh sản của chuột đực và đột biến gây mất chức năng của các gen tham gia con đường chức năng của protein Piwi đều dẫn tới vô sinh ở con đực (Pillai, Chuma, 2012). Ở người, phức hợp tương tác giữa protein PIWI (P-element-induced wimpy testis) và RNA kích thước nhỏ (piRNA - PIWI-interacting RNA) cũng đóng vai trò quan trọng đối với khả năng sinh tinh và sinh sản của nam giới (Cao *et al.*, 2018). Ở động vật có vú, các piRNA biểu hiện nhiều ở các tế bào mầm của con đực, đặc biệt là ở giai đoạn sau sinh tinh (postnatal spermatogenesis)

(Aravin *et al.*, 2008; Tam *et al.*, 2008). Các phân tử nhỏ này đóng vai trò áp chế các gen nhảy thông qua các quá trình như methyl hoá DNA và tái cấu trúc chromatin không cho gen nhảy sử dụng các cơ chế mã hoá và sau mã hoá để di chuyển (Carmell *et al.*, 2007; Brower-Toland *et al.*, 2007; Aravin *et al.*, 2009).

Các đột biến trên gen *PIWI* ở tế bào mầm ở người đã được quan sát là có khả năng ngăn cản việc protamine thể chỗ histone ở giai đoạn tiền tinh trùng trong quá trình sinh tinh, dẫn đến vô sinh không tinh trùng (Gou *et al.*, 2017). Các đột biến ở một số gen tham gia con đường chức năng của protein PIWI cũng gây ra sai hỏng trong quá trình sinh tinh, gồm hai giai đoạn phát triển khác nhau giảm phân tinh bào và tiền tinh trùng sau khi trải qua giảm phân, trong đó có *TDRD9* (Tudor domain-containing 9) có đột biến gây ra bất thường ở giai đoạn giảm phân (Shoji *et al.*, 2009). Gen này đóng vai trò quan trọng đối với quá trình tổng hợp piRNA. *TDRD9* là gen đầu tiên thuộc họ *TDRD* (Tudor domain-containing) (Liu *et al.*, 2010; Pillai, Chuma, 2012) được chứng minh gây ra bệnh vô sinh nam (Arafat *et al.*, 2017). Ngoài ra, các gen khác thuộc họ *TDRD* như *TDRD1*, *TDRD5* cũng đóng vai trò quan trọng trong việc “ức chế” gen nhảy (retrotransposon) khi tương tác với các protein PIWI (Chuma *et al.*, 2006; Yabuta *et al.*, 2011).

Gen *TDRD9* đóng vai trò trọng đối với bệnh vô sinh nam tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào về sự tương quan đa hình trên gen này với bệnh nhân vô sinh nam. Đa hình gen *TDRD9* rs2273841 làm thay đổi nucleotide T sang G tại vị trí 3833 (NM_153046.3:c.3833T>G), dẫn đến thay đổi Phenylalanine ở vị trí 1278 thành Cysteine. Hơn nữa, đa hình sai nghĩa này được dự đoán là có khả năng gây bệnh bởi các phần mềm tin sinh học PolyPhen-2 (probably damaging) và SIFT (damaging). Chính vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định mối liên hệ của đa hình gen *TDRD9* rs2273841 với bệnh vô sinh nam ở quần thể người Việt Nam.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu bao gồm mẫu máu của 324 cá thể nam giới (gồm 164 bệnh nhân vô sinh nam và 160 mẫu đối chứng) được thu thập tại các trung tâm hỗ trợ sinh sản ở thành phố Hà Nội. Các mẫu bệnh phải đáp ứng các điều kiện như không có con sau ít nhất 12 tháng khi quan hệ vợ chồng không sử dụng biện pháp tránh thai và chưa từng có con, được chẩn đoán không có tinh trùng (azoospermia) hoặc có số lượng tinh

trùng ít (oligospermia), có bộ nhiễm sắc thể bình thường, và không có bệnh sử về các bệnh gây vô sinh như quai bị (làm teo tinh hoàn), các bệnh truyền nhiễm, hay nghiện ma túy. Mẫu đối chứng là nam giới có ít nhất một con không sử dụng công nghệ hỗ trợ sinh sản. Tất cả những đối tượng đáp ứng đủ các điều kiện đều ký vào phiếu đồng ý cho mẫu trước khi cung cấp máu cho nghiên cứu. Nghiên cứu này được thông qua bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu sinh của Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Phương pháp

Xác định kiểu gen của đa hình gen *TDRD9* rs2273841

DNA tổng số tách từ mẫu máu sử dụng Kit GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification (Thermo Fisher Scientific Inc., Vilnius, Lithuania) được sử dụng để khuếch đại vùng gen *TDRD9* chứa đa hình rs2273841 với cặp mồi đặc hiệu được thiết kế sử dụng phần mềm Primer3 với trình tự sau:

TDRD9-rs2273841-F:
5'AGTCCTTTGTGGTTTGGGGT3'

TDRD9-rs2273841-R:
5'TGAGAGACTCAGAGAGCACCA3'

Thành phần của phản ứng khuếch đại PCR bao gồm: 1 µl Dream Taq buffer (10X); 0,6 µl dNTP (2,5 mM); 0,2 µl mồi xuôi và ngược (10 pmol); 0,05 µl Taq polymerase; 2 µl DNA (10 ng/µl) và H₂O, tổng thể tích 10 µl. Chu trình nhiệt của phản ứng: 95°C/5 phút, 95°C/30 giây, 53°C/30 giây, 72°C/30 giây, 72°C/5 phút (35 chu kì). Sản phẩm PCR (2µl) được điện di kiểm tra trên gel agarose 1%.

Sản phẩm PCR được xử lý bằng enzyme *TasI* (Thermo Fisher) ở nhiệt độ 65°C trong 5 giờ. Thành phần của phản ứng cắt bao gồm: 0,35 µl buffer B; 0,1 µl enzyme *TasI*; 3 µl DNA và 1,55 µl H₂O, tổng thể tích 5 µl. Sản phẩm sau khi xử lý được điện di kiểm tra trên gel agarose 2%. Dựa trên kích thước và số lượng các băng DNA thu được của sản phẩm PCR sau khi được xử lý bằng enzyme, kiểu gen của đa hình rs2273841 sẽ được xác định (Bảng 1).

Phân tích số liệu

Việc phân tích số liệu được thực hiện trên phần mềm Microsoft Excel (Microsoft Corp., Washington, DC, USA) và R phiên bản 4.1.2. Kiểm định Chi bình phương (χ^2) trong package “HardyWeinberg” được sử dụng để kiểm tra trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg (HWE) của quần thể.

Thêm vào đó, chúng tôi sử dụng package “epitools” và chỉ số OR với khoảng tin cậy 95% để đánh giá sự liên quan giữa đa hình và bệnh vô sinh nam trên ba mô hình khác nhau, bao gồm cộng gộp (additive

model), trội (dominant model), lặn (recessive model). Tất cả các phép kiểm định đều có tính chất hai phía. Các kiểm định được coi là có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

Bảng 1. Số lượng và kích thước các băng sản phẩm cắt tương ứng với các kiểu gen của đa hình gen *TDRD9* rs2273841.

Kiểu gen	Số lượng đoạn DNA	Chiều dài đoạn DNA (bp)
TT	2	83, 267
TG	3	83, 267, 350
GG	1	350

KẾT QUẢ

Xác định kiểu gen của đa hình *TDRD9* rs2273841

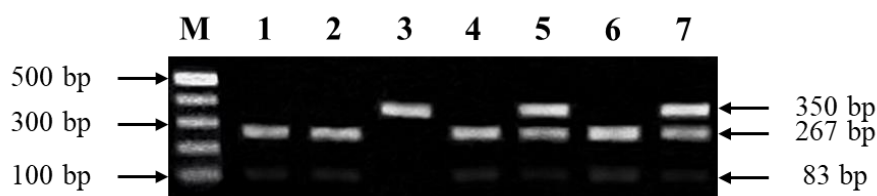
Chúng tôi sử dụng cặp mồi đặc hiệu *TDRD9*-rs2273841-F và *TDRD9*-rs2273841-R để khuếch đại vùng trình tự đích chứa đa hình gen *TDRD9* rs2273841 bằng kỹ thuật PCR. Kết quả điện di cho thấy băng sản phẩm PCR sáng rõ và có kích thước đúng dự đoán. Sau đó, sản phẩm PCR được cắt bằng enzyme *TasI*. Kết quả điện di sản phẩm của một số mẫu đại diện cho thấy: ở các giếng 5, 7 có 3 băng DNA (350 bp, 267 bp, 83 bp) tương ứng với kiểu gen TG; giếng 3 có duy nhất 1 băng DNA (350 bp) tương ứng với kiểu gen GG; giếng 1, 2, 4, 6 xuất hiện 2 băng DNA (267 bp, 83 bp) tương ứng với kiểu gen TT (Hình 1).

Kết quả xác định kiểu gen và tần số allele của đa hình rs2273841 của 324 mẫu nghiên cứu được thống kê ở bảng 2. Tỷ lệ kiểu gen (GG/GA/AA) quan sát được trên nhóm bệnh (93,29%/4,87%/1,84%) không sai lệch đáng kể so với nhóm chứng

(97,50%/2,50%/0,00%), và tỷ lệ này cũng không thay đổi nhiều trên toàn bộ nhóm đối tượng nghiên cứu (95,37%/3,70%/0,93%) (Bảng 2). Khi so sánh tần số allele G ở nhóm bệnh (0,043) với nhóm chứng (0,0125), chúng tôi cũng không nhận thấy sự khác biệt đáng kể nào. Phân tích thống kê cho thấy sự phân bố kiểu gen của đa hình rs2273841 (T>G) chỉ tuân theo định luật cân bằng HWE trên nhóm chứng ($p > 0,05$).

Phân tích mối tương quan giữa đa hình *TDRD9* rs2273841 và bệnh vô sinh nam

Mối tương quan giữa kiểu gen và tần số allele của đa hình gen *TDRD9* rs2273841 với khả năng mắc bệnh vô sinh nam được đánh giá bằng phương pháp thống kê kiểm định Chi bình phương (χ^2). Kết quả phân tích cho thấy giá trị p thu được ở cả 3 mô hình (cộng gộp, trội, lặn) đều lớn hơn 0,05 do đó các phép kiểm định không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3). Như vậy, kiểu gen cũng như allele của đa hình rs2273841 không liên quan đến nguy cơ mắc bệnh vô sinh nam ở nhóm đối tượng nghiên cứu.



Hình 1. Ảnh điện di đại diện một số sản phẩm PCR cắt bằng enzyme *TasI*. M: Marker 100 bp; Giếng 1, 2, 4, 6: Kiểu gen TT; Giếng 5, 7: Kiểu gen TG; Giếng 3: Kiểu gen GG.

Bảng 2. Bảng thống kê kiểu gen và tần số allele đa hình rs2273841.

	Kiểu gen			Allele	
	TT	TG	GG	T	G
Nhóm bệnh (n = 164)	153 (93,29%)	8 (4,87%)	3 (1,84%)	0,957	0,043
Nhóm chứng (n = 160)	156 (97,50%)	4 (2,50%)	0 (0,00%)	0,9875	0,0125
Tổng số	309 (95,37%)	12 (3,70%)	3 (0,93%)	0,972	0,028

Bảng 3. Phân tích mối liên hệ giữa đa hình gen *TDRD9* rs2273841 với bệnh vô sinh nam.

Mô hình	Nhóm bệnh (n, %)	Nhóm chứng (n, %)	OR	95% CI	Giá trị p
Mô hình cộng gộp					
TT	153 (30,91%)	156 (37,86%)	1,000		0,311
TG	8 (56,36%)	4 (48,54%)	0,500	0,126 – 1,659	0,243
GG	3 (12,73%)	0 (13,59%)	0,356	0,012 – 3,111	0,311
Mô hình trội					
TT	153 (30,91%)	156 (37,86%)	1,000		
TG + GG	11 (69,09%)	4 (62,14%)	0,454	0,137 – 1,298	0,133
Mô hình lặn					
TT + TG	161 (87,27%)	160 (86,4%)	1,000		
GG	3 (13,73%)	0 (13,6%)	1,078	0,010 – 2,033	0,185
Allele					
T	158 (59,09%)	158 (62,13%)	1,000		
G	7 (40,91%)	2 (37,87%)	0,439	0,088 – 1,655	0,209

Chú ý: n (%): Số lượng cá thể (phần trăm); OR: Tỷ số odds; 95% CI: Khoảng tin cậy 95%; p-value được tính bằng kiểm định Chi-square.

THẢO LUẬN

Họ gen *TDRD* đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ tế bào mầm khỏi ảnh hưởng của các gen nhảy (Sukthaworn *et al.*, 2019). Trong đó, tương tác giữa hai gen *TDRD9* và *HIWI2* có ảnh hưởng lớn đến sự tổng hợp các piRNA. Chuột mang đột biến *Tdrd9*^{-/-} sẽ thiếu hụt hoàn toàn lượng piRNA trong tinh hoàn so với chuột không mang đột biến gen này (Shoji *et al.*, 2009). Đột biến gen *TDRD9* ở bé trai có tinh hoàn ảm làm tăng nguy cơ bị vô sinh do các gen nhảy không bị át chế (Hadziselimovic *et al.*, 2012). Nghiên cứu của Arafat và cộng sự đã phát hiện được mối liên quan giữa đột biến dịch khung c.720_723 del TAGT ở gen *TDRD9* với NOA (Arafat *et al.*, 2017). Đột biến này được tìm thấy ở dạng đồng hợp tử lặn chỉ ở bệnh nhân không có tinh trùng và không được tìm thấy trên 202 cá thể khỏe mạnh. Hơn nữa, sự có mặt của đột biến c.720_723 del TAGT không ảnh hưởng đến khả năng sinh sản của nữ giới. Điều này hoàn toàn phù hợp với hiện tượng quan sát được ở chuột, trong đó quá trình giảm phân cũng như cấu trúc của noãn bào không xảy ra biến đổi gì khi gen *TDRD9* không được biểu hiện (Shoji *et al.*, 2009). Ngoài ra, nghiên cứu về mức độ biểu hiện của một số gen thuộc họ gen *TDRD* trong bệnh nhân không có tinh trùng cho thấy sự biểu hiện của gen *TDRD9* giảm đáng kể ở các bệnh nhân ngừng

sinh tinh nửa chừng so với các bệnh nhân vô sinh do tắc nghẽn (Babakhanzadeh *et al.*, 2020). Tuy nhiên, nghiên cứu trên 342 người Hán vô sinh không do tắc nghẽn đã không tìm thấy mối liên quan của các đa hình của gen *TDRD9* (rs45550534 và rs3783312) với vô sinh nam (Zhu *et al.*, 2016). Trong nghiên cứu này, kiểu gen cũng như tần số allele của đa hình rs2273841 trên gen *TDRD9* đã được xác định và nghiên cứu ảnh hưởng trên bệnh nhân vô sinh nam. Tuy nhiên, chúng tôi không tìm thấy mối liên hệ giữa đa hình gen *TDRD9* rs2273841 với bệnh vô sinh nam. Để khẳng định mối liên quan của đa hình gen *TDRD9* với bệnh vô sinh nam, chúng tôi sẽ tiếp tục mở rộng nghiên cứu trên một số đa hình khác trên gen này ở quần thể người Việt Nam.

KẾT LUẬN

Sử dụng phương pháp PCR-RFLP, chúng tôi đã xác định được kiểu gen của đa hình gen *TDRD9* rs2273841 ở quần thể người Việt với tỉ lệ kiểu gen TT/TG/GG lần lượt là 95,37%; 3,70% và 0,93%. Các phân tích thống kê dựa trên dữ liệu kiểu gen và allele của *TDRD9* đều cho thấy đa hình này không liên quan đến nguy cơ mắc bệnh vô sinh nam (p>0,05). Kết quả của nghiên cứu này góp phần vào nghiên cứu tương quan đa hình gen *TDRD9* với bệnh vô sinh nam.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự tài trợ từ nhiệm vụ khoa học công nghệ quốc gia do Bộ Khoa học và công nghệ cấp (60/19-ĐTĐL.CN-XNT).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Arafat M, Har-Vardi I, Harlev A, Levitas E, Zeadna A, Abofoul-Azab M, Dyomin V, Sheffield VC, Lunenfeld E, Huleihel M, Parvari R (2017) Mutation in TDRD9 causes non-obstructive azoospermia in infertile men. *J Med Genet* 54:633–639.

Aravin A, Gaidatzis D, Pfeffer S, Lagos-Quintana M, Landgraf P, Iovino N, Morris P, Brownstein MJ, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chien M, Russo JJ, Ju J, Sheridan R, Sander C, Zavolan M, Tuschl T (2006) A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes. *Nature* 442:203–7.

Aravin AA, Van Der Heijden GW, Castaneda J, Vagin V V., Hannon GJ, Bortvin A (2009) Cytoplasmic compartmentalization of the fetal piRNA pathway in mice. *PLoS Genet* 5:e1000764.

Aravin AA, Sachidanandam R, Bourc'his D, Schaefer C, Pezic D, Toth KF, Bestor T, Hannon GJ (2008) A piRNA Pathway Primed by Individual Transposons Is Linked to De Novo DNA Methylation in Mice. *Mol Cell* 31:785–99.

Babakhanzadeh E, Khodadadian A, Rostami S, Alipourfard I, Aghaei M, Nazari M, Hosseinnia M, Mehrjardi MYV, Jamshidi Y, Ghasemi N (2020) Testicular expression of TDRD1, TDRD5, TDRD9 and TDRD12 in azoospermia. *BMC Med Genet* 21.

Brower-Toland B, Findley SD, Jiang L, Liu L, Yin H, Dus M, Zhou P, Elgin SCR, Lin H (2007) Drosophila PIWI associates with chromatin and interacts directly with HP1a. *Genes Dev* 21:2300–2311.

Cao C, Wen Y, Wang X, Fang N, Yuan S, Huang X (2018) Testicular piRNA profile comparison between successful and unsuccessful micro-tese retrieval in noa patients. *J Assist Reprod Genet* 35:801–808.

Carmell MA, Girard A, van de Kant HJG, Bourc'his D, Bestor TH, de Rooij DG, Hannon GJ (2007) MIWI2 Is Essential for Spermatogenesis and Repression of Transposons in the Mouse Male Germline. *Dev Cell* 12:503–514.

Chuma S, Hosokawa M, Kitamura K, Kasai S, Fujioka M, Hiyoshi M, Takamune K, Noce T, Nakatsuji N (2006) Tdrd1/Mtr-1, a tudor-related gene, is essential for male germ-cell differentiation and nuage/germinal granule formation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:15894–9.

Girard A, Sachidanandam R, Hannon GJ, Carmell MA (2006) A germline-specific class of small RNAs binds mammalian Piwi proteins. *Nature* 442:199–202.

Gou LT, Kang JY, Dai P, Wang X, Li F, Zhao S, Zhang M,

Hua MM, Lu Y, Zhu Y, Li Z, Chen H, Wu LG, Li D, Fu XD, Li J, Shi HJ, Liu MF (2017) Ubiquitination-Deficient Mutations in Human Piwi Cause Male Infertility by Impairing Histone-to-Protamine Exchange during Spermiogenesis. *Cell* 169:1090-1104.e13.

Hadziselimovic F, Hadziselimovic NO, Demougin P, Krey G, Oakeley EJ (2012) Deficient expression of genes involved in the endogenous defense system against transposons in cryptorchid boys with impaired mini-puberty. *Sex Dev* 5:287–93.

Jarow JP (2007) Diagnostic Approach to the Infertile Male Patient. *Endocrinol Metab Clin North Am* 36:297–311.

Jarvi K, Lo K, Fischer A, Grantmyre J, Zini A, Chow V, Mak V (2010) CUA guideline: The workup of azoospermic males. *J Can Urol Assoc* 4:163–167.

Lee JY, Dada R, Sabanegh E, Carpi A, Agarwal A (2011) Role of genetics in azoospermia. *Urology* 77:598–601.

Liu K, Chen C, Guo Y, Lam R, Bian C, Xu C, Zhao DY, Jin J, MacKenzie F, Pawson T, Min J (2010) Structural basis for recognition of arginine methylated Piwi proteins by the extended Tudor domain. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:18398–18403.

Ma M, Yang S, Zhang Z, Li P, Gong Y, Liu L, Zhu Y, Tian R, Liu Y, Wang X, Liu F, He L, Liu Y, Yang H, Li Z, He Z (2013) Sertoli cells from non-obstructive azoospermia and obstructive azoospermia patients show distinct morphology, Raman spectrum and biochemical phenotype. *Hum Reprod* 28:1863–1873.

Pillai RS, Chuma S (2012) piRNAs and their involvement in male germline development in mice. *Dev Growth Differ* 54:78–92.

Shoji M, Tanaka T, Hosokawa M, Reuter M, Stark A, Kato Y, Kondoh G, Okawa K, Chujo T, Suzuki T, Hata K, Martin SL, Noce T, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Sasaki H, Pillai RS, Nakatsuji N, Chuma S (2009) The TDRD9-MIWI2 Complex Is Essential for piRNA-Mediated Retrotransposon Silencing in the Mouse Male Germline. *Dev Cell* 17:775–87.

Slotkin RK, Martienssen R (2007) Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat Rev Genet* 8:272–85.

Sukthaworn S, Panyim S, Udomkit A (2019) Functional characterization of a cDNA encoding Piwi protein in *Panaeus monodon* and its potential roles in controlling transposon expression and spermatogenesis. *Comp Biochem Physiol -Part A Mol Integr Physiol* 229:60–68.

Tam OH, Aravin AA, Stein P, Girard A, Murchison EP, Cheloufi S, Hodges E, Anger M, Sachidanandam R, Schultz RM, Hannon GJ (2008) Pseudogene-derived small interfering RNAs regulate gene expression in mouse oocytes. *Nature* 453:534–8.

Watanabe T, Takeda A, Tsukiyama T, Mise K, Okuno T, Sasaki H, Minami N, Imai H (2006) Identification and characterization of two novel classes of small RNAs in the mouse germline: Retrotransposon-derived siRNAs in oocytes and germline small RNAs in testes. *Genes Dev* 20:1732–43.

Yabuta Y, Ohta H, Abe T, Kurimoto K, Chuma S, Saitou M (2011) TDRD5 is required for retrotransposon silencing, chromatoid body assembly, and spermiogenesis in mice. *J*

Cell Biol 192:781–95.

Zhou Y, Qin D, Tang A, Zhou D, Qin J, Yan B, Diao R, Jiang Z, Cai Z, Gui Y (2009) Developmental expression pattern of a novel gene, TSG23/Tsg23, suggests a role in spermatogenesis. *Mol Hum Reprod* 15:223–30.

Zhu X Bin, Lu JQ, Zhi EL, Zhu Y, Zou SS, Zhu ZJ, Zhang F, Li Z (2016) Association of a TDRD1 variant with spermatogenic failure susceptibility in the Han Chinese. *J Assist Reprod Genet* 33:1099.

STUDY ON THE ROLE OF *TDRD9* rs2273841 IN MALE INFERTILITY OF VIETNAMESE

Nguyen Thuy Duong^{1,2}, La Duc Duy¹, Duong Thi Thu Ha¹

¹*Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology*

²*Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology*

SUMMARY

Male infertility is a complex disease caused by multiple factors, including genetic ones. Among genes involved in spermatogenesis, *TDRD9* has been demonstrated to play an important role in piRNA synthesis, but no association study between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of *TDRD9* and male infertility has been conducted to date. Therefore, this study focused on establishing the relationship between SNP *TDRD9* rs2273841 and male infertility. Total DNAs were isolated from 324 Vietnamese individuals comprising 164 non-obstructive azoospermic and oligozoospermic patients and 160 healthy controls having at least one child. Genotypes of this polymorphism were determined using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Chi-Square test was used to test whether allele distribution of *TDRD9* rs2273841 follows Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE). Chi-Square test or Fisher's exact test was used to check three models (additive, recessive, dominant) for the association of rs2273841 with male infertility. The results indicated that *TDRD9* rs2273841 followed Hardy-Weinberg equilibrium (p -value > 0.05) in the control group. However, no association between the polymorphism and male infertility was established in all three models (additive, dominant, and recessive) (p -value > 0.05). This study would provide a basis for further studies on the association of *TDRD9* with male infertility in the Vietnamese population.

Keywords: PCR-RFLP, rs2273841, *TDRD9*, Vietnam, male infertility.