

國家科學及技術委員會補助專題研究計畫報告

研究不同遺傳檢測平台對於微量單/寡細胞包括鑲嵌型組成以及微小缺失/重複核型變化的診斷力比較分析：建立學術性可信賴
胚胎著床前遺傳診斷的先決條件性驗證研究

報告類別：成果報告
計畫類別：個別型計畫
計畫編號：NSTC 112-2629-B-371-001-
執行期間：112年08月01日至113年07月31日
執行單位：彰化基督教醫療財團法人彰化基督教醫院基因醫學部

計畫主持人：陳明
共同主持人：李宗賢、馬國欽、張庭毓

計畫參與人員：碩士級-專任助理：施雅文

本研究具有政策應用參考價值：否 是，建議提供機關
(勾選「是」者，請列舉建議可提供施政參考之業務主管機關)
本研究具影響公共利益之重大發現：否 是

中華民國 113 年 10 月 29 日

中文摘要：本研究聚焦於鑲嵌型胚胎的非整倍體胚胎植入前遺傳篩檢 (preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A) 方法及其應用，目的是為不孕症家庭提供更多的胚胎植入選擇，提升健康胎兒的誕生率。根據研究，隨著女性年齡增加，胚胎染色體異常的風險逐漸升高，這會直接影響人工生殖的成功率與胎兒健康。鑲嵌型胚胎包含正常與異常染色體細胞，成為具有潛力的選擇性植入方案。研究指出，低度鑲嵌型胚胎與整倍體胚胎的活產率無顯著差異，因此被視為可行的替代選項。

為了驗證PGT-A篩檢在鑲嵌型胚胎篩選中的效果，本研究利用細胞混合的方式模擬鑲嵌型胚胎，並比較使用REPLI-g和PicoPLEX全基因組擴增 (whole genome amplification, WGA) 技術產生的微陣列雜交比對法 (array based comparative genomic hybridization, aCGH) 之基因晶片分析結果。結果顯示，REPLI-g技術在基因晶片的檢測上有較佳的解析度，且在高比例異常下能測出鑲嵌體存在，特別是對18號染色體的異常最為明顯，但對小片段缺失的8號染色體則較難辨識。本研究強調了鑲嵌型胚胎篩檢技術的發展對不孕症患者的重要性。透過持續優化PGT-A篩檢方法，本研究希望能更有效提升臨床上鑲嵌型胚胎的篩選效果。

中文關鍵詞：非整倍體胚胎植入前遺傳篩檢；非整倍體；鑲嵌型；全基因組擴增技術；微陣列雜交比對法

英文摘要：This study focused on the methods and applications of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) for mosaic embryos, aiming to offer more implantation options for infertile families and increase the birth rate of healthy infants. Research shows that as maternal age increases, the risk of chromosomal abnormalities in embryos rises, which directly impacts the success rate of assisted reproduction and the health of offspring. Mosaic embryos contain normal and abnormal chromosomal cells and have recently become a potential selective implantation solution. Studies indicate that low-level mosaic embryos exhibit live birth rates comparable to euploid embryos, suggesting that they are a viable alternative.

In order to verify the effect of PGT-A screening in mosaic embryo screening, this study used cell mixing to simulate mosaic embryos and compared the gene chip analysis results using REPLI-g and PicoPLEX whole-genome amplification technology. Results demonstrated that the REPLI-g technique provides superior resolution in detecting chromosomal abnormalities on microarrays. It also detected mosaicism more clearly at higher abnormal ratios, especially for trisomy 18, though it was less effective for small segmental deletions, such as on chromosome 8 in this study. This research highlights the significance of advancements in mosaic embryo screening technology for infertile patients. By continuously optimizing PGT-A screening

methods, this study aimed to enhance clinical selection of mosaic embryos, ultimately increasing the chances of healthy live births for infertile families and offering safer reproductive options with higher success rates. This study highlighted the importance of the development of mosaic embryo screening technology for infertile patients. By continuously optimizing the PGT-A screening method, this study hoped to more effectively improve the clinical screening effect of mosaic embryos.

英文關鍵詞： preimplantation genetic testing for aneuploidy, aneuploidy, mosaicism, whole genome amplification, array based comparative genomic hybridization

背景

根據衛生福利部國民健康署 109 年度的數據分析，台灣在當年進行了共計 38289 個人工生殖週期，其中只有 5.1% 的情況使用了捐贈的精子或卵子，大多數（94.9%）為配偶間的人工生殖。如果扣除接受捐精或捐卵者的案例，有 75.2% 的受術者年齡在 35 歲以上，符合國內高齡產婦的定義（衛生福利部國民健康署，2022）。研究指出，當母親年齡超過 35 歲，流產風險將會增加，自然流產的胎兒中約有三分之二出現染色體異常（Heffner, 2004）。依據一項針對 15169 個囊胚滋養層細胞（trophectoderm, TE）的染色體研究，女性年齡超過 35 歲後胚胎正常率自 65% 起逐年下降，至 39 歲時不足 50% 的胚胎染色體為正常組成，43 歲後正常率降至不到 20%，超過 47 歲時，胚胎幾乎皆為異常染色體（Franasiak et al., 2014）。另有研究顯示，人工生殖夫妻的胚胎染色體異常比例高於一般族群，約為 63.7% 到 78.9%，而一般族群約為 30% 到 40%（Werner et al., 2012）。大多數染色體非整倍體（aneuploid）胚胎會在懷孕 20 週前自然流產，植入染色體異常胚胎被認為是導致懷孕失敗及流產的主要原因。然而，若植入特定的染色體三體症（如 13、18、21 號染色體）或性染色體異常的胚胎，則有可能活產出染色體異常的新生兒。

基於這些風險，非整倍體胚胎的植入前遺傳篩檢（preimplantation genetic testing for aneuploidy, PGT-A）常被用來檢測胚胎的染色體數目是否完整，也被視為評估胚胎健康的遺傳指標。PGT-A 利用不同的遺傳工具，針對發育 5 至 6 天的囊胚期胚胎切片（5 至 10 個細胞）進行分析。隨著 PGT-A 應用增加，研究比較了植入形態上高品質胚胎的週期與經 PGT-A 篩檢後的週期，發現這兩種方式的懷孕率及健康胎兒活產率無顯著差異，但前提是植入三個或以上的胚胎。再者，針對單一胚胎植入的研究顯示，僅依賴形態挑選的胚胎中，約 28% 的非整倍體胚胎仍會被選中植入，而這顯著降低了活產率（50% 對比 8%）（Wang et al., 2021）。染色體異常的成因可能在合子形成前，即因原始生殖細胞的有絲分裂錯誤或配子形成時的減數分裂錯誤而影響整個胚胎；另一種成因則為合子形成後的異常（有絲分裂錯誤），這類情況常出現鑲嵌型胚胎，即單個胚胎中存在染色體組成不同的細胞。隨著次世代定序（next generation sequencing; NGS）技術逐步應用於 PGT-A 篩檢，鑲嵌體胚胎檢出率顯著增加，相較於其他技術（如基因晶片、螢光原位雜合 FISH、即時定量 PCR），此技術能更有效發現嵌合型異常。對於部分不孕症患者，即便胚胎呈現鑲嵌型異常，仍具植入價值。然而，植入鑲嵌型異常胚胎是否安全，尚有待進一步研究（Abhari and Kawwass, 2021）。

2015 年，Greco 團隊在《新英格蘭醫學期刊》發表研究指出，單一鑲嵌型胚胎植入後仍有 33%（6/18）的機率生出健康嬰兒（Greco et al., 2015），此後鑲嵌型胚胎植入逐漸成為不孕症夫妻的選擇之一。2021 年 Wang 團隊也研究了鑲嵌體胚胎植入，儘管樣本數有限，但相較於正常胚胎，鑲嵌體胚胎的懷孕率稍低（69% 對 56%），而活產率達 44%（正常胚胎 50%）（Wang et al., 2021）。另一大

規模低度（20-30%）及中度（30-50%）鑲嵌體單一胚胎植入研究指出，與完全整倍體胚胎相比，流產率和活產率均無顯著差異。本地研究亦顯示，植入低度鑲嵌型胚胎的孕婦，其胎兒染色體核型檢查結果正常（Capalbo et al., 2021）。這些研究顯示植入鑲嵌型胚胎對後續活產率無明顯影響，可能與胚胎切片的時機有關。臨床上，切片多於胚胎發育第 5 至 6 天的囊胚期進行，此時細胞已分化為外圍的滋養層細胞（TE）及內部的內細胞團（ICM）。TE 將發育為胎盤，而 ICM 則發育為胎兒。胎盤組織的發育過程中，約有 1-2% 會發生限制性胎盤嵌合體（CPM），即染色體異常限制於胎盤組織（Hahnemann and Vejerslev, 1997; Kalousek and Vekemans, 1996），ICM 大多不含染色體異常。雖然約 71% 具有 CPM 的胎兒會有生長遲滯現象（Eggenhuizen et al., 2021），但大約 72%-87% 的胎兒染色體核型正常（Spinillo et al., 2022）。本單位亦曾有一案例，胎兒染色體正常但因 CPM 導致生長遲滯與羊水過少，最終中止懷孕。

2021 年 Capalbo 團隊將囊胚分為四部分 TE 進行分析，結果顯示，低度或中度嵌合型的 TE，其餘 TE 細胞超過 95% 正常；若 TE 為高度嵌合型（50-70%），則整個胚胎（包括 ICM 及其餘 TE）的異常機率達 65%。若 ICM 為正常，則 57% 的 TE 存在異常，若 ICM 異常，則所有 TE 異常率達 100%。綜上，當嵌合程度低於 50% 時，異常細胞多限制於單一 TE 區域，較少影響 ICM（Capalbo et al., 2021）。

每一個囊胚對不孕症家庭來說皆珍貴。根據 Capalbo 2021 年研究，6766 個囊胚中，低或中度鑲嵌型佔 17.1%，高度鑲嵌型 1.6%，整倍體 23.2%，非整倍體 58.1%，顯示低或中度鑲嵌型與整倍體囊胚比例相當（Capalbo et al., 2021）。近期研究亦證實，低或中度鑲嵌型囊胚植入後的活產率接近正常胚胎，為不孕症家庭提供更多植入選擇並提升健康小孩誕生率（Spinella et al., 2018; Zhang et al., 2019; Lin et al., 2020）。然而，PGT-A 篩檢是否能真實重現 TE 異常細胞比例，目前尚無法確定，這也是本計畫欲探討的課題。PGT-A 的檢測方法繁多，包括螢光原位雜合、即時定量 PCR、基因晶片和次世代定序等，不同方法的檢測一致性多未經驗證。此外，現今主流的基因晶片和次世代定序在 PGT-A 中的應用存在限制，即 TE 切片的細胞 DNA 量（約 30-60 pg）不足以進行單次檢測，需借助全基因組擴增技術（Whole genome amplification, WGA）將 DNA 擴增以滿足檢測需求。本研究著重於本實驗室臨床常規使用的基因晶片方法學。

本計畫採用之研究方法

本計畫擬採用混和染色體異常及正常之羊水（amniotic fluid）細胞方式模擬鑲嵌型胚胎切片所獲得之細胞團，以不同的 PGT-A 檢測方法進行胚胎基因組分析。

樣本納入

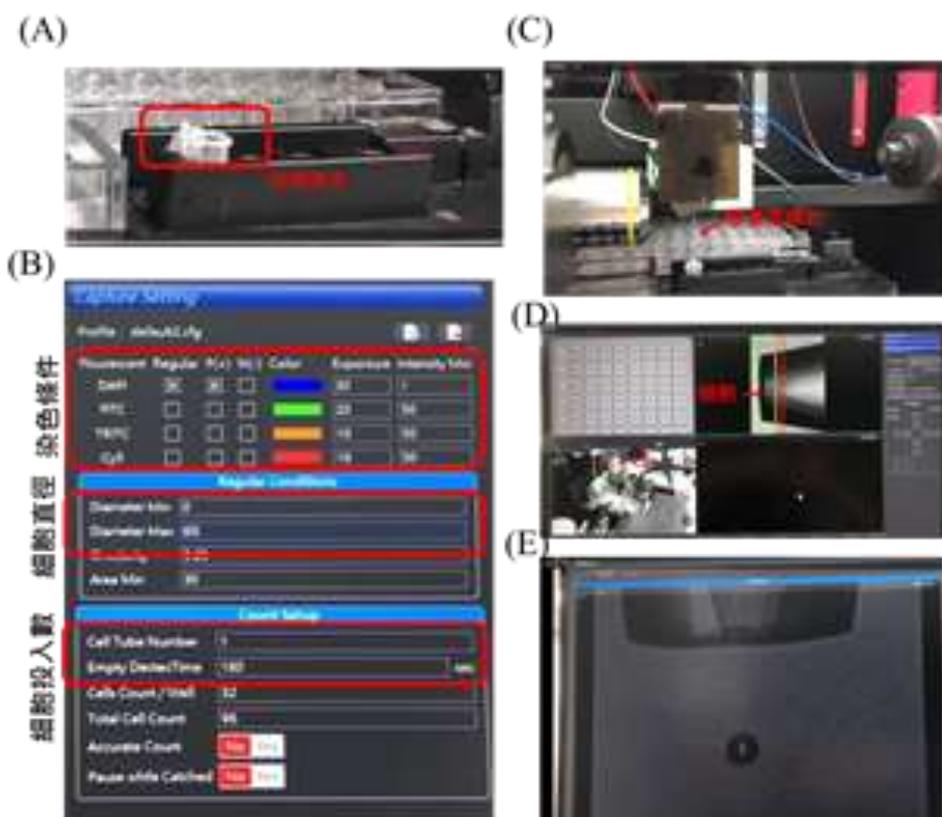
本案的受試者將由主持人陳明醫師、遺傳諮詢師李美慧醫檢師、共同主持人馬國欽博士或共同主持人張庭毓博士為其解說計畫內容。計畫所收案之個案皆為臨

床上接受產前羊水穿刺或絨毛膜採檢並進行胎兒核型（如：染色體、晶片）檢查後已知結果的孕婦，而研究所使用的細胞則是完成臨床遺傳檢測後剩餘原欲廢棄之羊水或絨毛活細胞，這些納入收案的細胞核型包含：正常核型（46,XX 及 46,XY）、染色體三體症、微小片段缺失的個案。本計畫將由主持人陳明醫師進行個案的招募，受試者須為同意參與本計劃研究並簽署 IRB 同意書之 20-60 歲成年人。經受試者同意並簽署同意書後，將保留臨床檢查後剩餘胎兒羊水或絨毛細胞，經過培養增加細胞數後將用於後續的研究或暫時保存於彰化基督教醫院 基因醫學部的液態氮保存容器中。

由於產前的異常樣本較為罕見，目前已經納入：一個 18 號染色體三體症的羊水；一個 21 號染色體三體整的羊水；一個 8 號染色體小片段缺失的羊水，以上全部的異常樣本皆為男性，混合的樣本為和異常樣本性別相反的羊水細胞。選定目標細胞之後將先單一細胞進行分選，之後將異常和正常的細胞依照實驗設定之特定比例進行混合，以便模擬鑲嵌型胚胎切片所得之細胞群，此細胞群將作為 PGT-A 實驗之檢體樣本。

建立精準比例的鑲嵌型細胞

我們以自動化單細胞分選平台—液滴式細胞分選儀 CA1 (Droplet Type Single Cell Sorting Platform, CtyoAurora, Taiwan) 進行個別細胞的分選。該設備使用特殊成型的壓電控制玻璃針進行微量液滴控制系統，並搭配側向與底部雙向獨立光學鏡頭，搭配辨識軟體可以即時取的細胞影像，提高並確保分選細胞的成功率（圖一）。



圖一、(A) 目標樣本放置於細胞吸取區；(B) 細胞染色、直徑、投入數...
等參數設定；(C) 玻璃針取樣；(D) 吸取細胞並以軟體進行細胞辨識；
(E) 使用壓電環 (piezoelectric ring) 控制並確認液滴正常滴出。

細胞混合比例

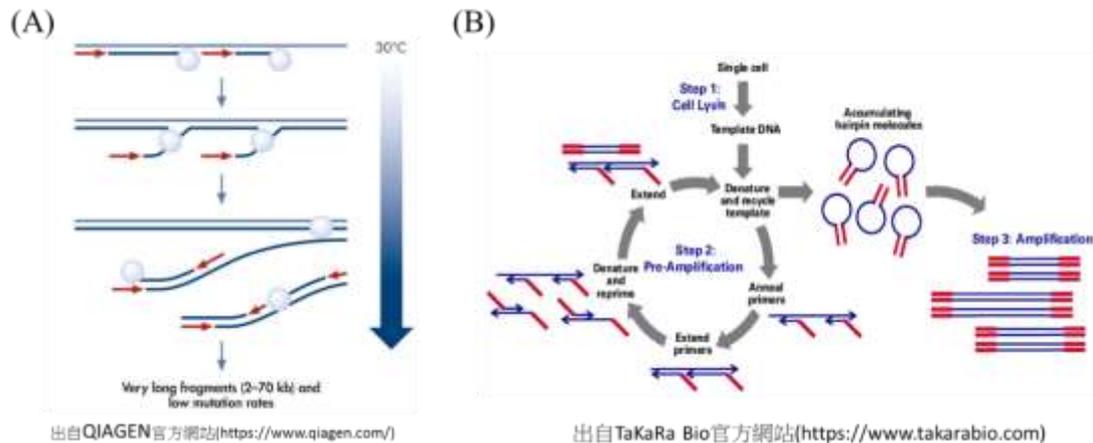
我們不同的正常細胞：異常細胞的比例混合，異常細胞為 8 號染色體微缺失、18 號染色體三體症、21 號染色體三體症，比例分別為 0：5、1：4、2：3、3：2、4：1、5：0。我們準備各三組不同比例混合的細胞，進行後續的 WGA 及基因晶片的分析。

全基因組擴增

本計畫將採用 2 種不同學理基礎的全基因組擴增套組進行 DNA 擴增：

(1) 基於 Multiple displacement amplification (MDA) 的 REPLI-g WGA 試劑套組 (Qiagen, Germany) (圖二、A)，採用 MDA 技術，利用隨機引子與目標 DNA 結合後，透過 Phi 29 (Φ 29) 嗜菌體聚合酶在 30°C 的恆溫下進行分支狀 DNA 擴增。 Φ 29 嗜菌體聚合酶能快速將數皮克 (pg) 級別的 DNA 擴增至數十微克 (μ g)，具備產量大、擴增片段長 (2-70 kb)、高敏感度的優點。然而，由於缺乏 DNA 修復機制，可能因操作引發 DNA 鹼基變異的機率升高，且常有非特異性擴增產物產生。儘管如此，由於操作簡單且產量充足，此套組為本團隊臨床常規 PGT-A 檢驗中使用的 WGA 試劑套組。將細胞降解後 (Lysis)，將加入隨機引子和聚合酶將 DNA 擴增，時間控制在 30°C 下 2 小時，並在 65°C 下 3 分鐘使酵素失活。使用 Qubit 雙股 DNA 檢測試劑套組 (Thermo Fisher Scientific, USA) 進行定量，通常可獲得 25-40 μ g 的 WGA DNA。

(2) 基於 PCR 基礎的 PicoPLEX WGA 試劑套組 (TaKaRa Bio, Japan) (圖二、B)，此方法包含兩個 PCR 階段：前擴增 (pre-amplification) 和擴增 (amplification) 階段。在前擴增階段，利用準隨機引子 (quasi-random priming) 進行擴增，形成的 DNA 片段帶有髮夾結構，該結構可防止前擴增時對擴增物的偏差擴增。在經過 10-12 個循環後，DNA 片段的髮夾結構在後續 12-14 個循環的擴增步驟中進行大量擴增。第二階段的擴增操作彈性大，可通過設計的引子直接建立符合特定次世代定序平台的 DNA 庫。最終的 WGA DNA 以 QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Germany) 進行純化，並以 NanoDrop 分光光度計 (Thermo Fisher Scientific, USA) 定量。



圖二、(A) 以 Multiple displacement amplification 為基礎的 REPLI-g WGA 套組；(B) 以 PCR 為基礎的 PicoPLEX WGA 套組（圖片來自各試劑銷售商官方網頁）。

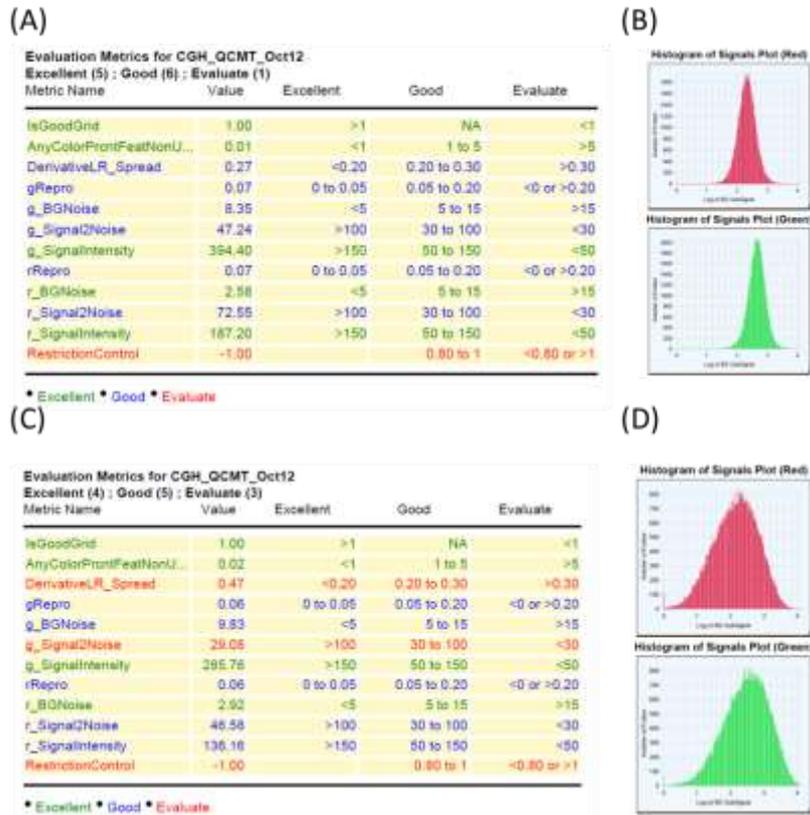
基因晶片分析

取 1000ng 的 WGA DNA 以 SureTag DNA 螢光套組（Agilent, USA）進行 Cy3 及 Cy5 的螢光標記（labeling），標記完成的 DNA 以 column 離心純化，純化後的產物以 NanoDrop Spectrophotometer 定量，定量後產物以 GenetiSure Pre-Screen Chip（Agilent, USA）雙光型基因晶片進行雜合反應（hybridization），雜合反應為在 65°C 下 16-20 小時，反應結束後以 Oligo aCGH/ChIP-on-Chip Wash Buffer Set（Agilent, USA）清洗後，離心風乾，使用 G4900DA SureScan microarray scanner（Agilent, USA）進行晶片掃描，掃描的結果以 Agilent CytoGenomics software（Agilent, USA）分析基因組。

結果

WGA 方法學對於基因晶片的適用性

由於不同比例的混合組別多，我們優先比較以 MDA 為基礎的 REPLI-g 試劑套組和以 PCR 為基礎的 PicoPLEX 試劑套組，在基因晶片上的適用性，結果顯示 REPLI-g 試劑套組產生的 WGA DNA 比起 PicoPLEX 試劑套組產生的 WGA DNA，在 GenetiSure Pre-Screen Chip 上有更好的解析度（圖三）。



圖三、比較 REPLI-g 試劑套組擴增的 WGA DNA 和 PicoPLEX 試劑套組擴增的 WGA DNA 應用在 GenetiSure Pre-Screen Chip 上的適用性。

評估指標（圖三、A 和 C）顯示在 REPLI-g 試劑套組產生的 WGA DNA 有更多”Excellent”的評等，而在訊號圖（Signals Plot）上也顯示在 REPLI-g 試劑套組產生的 WGA DNA 有較多的 DNA 和晶片上的探針雜合成功（圖三、B），相較之下 PicoPLEX 試劑套組產生的 WGA DNA 大概只有 REPLI-g 的 WGA DNA 雜合上去的探針的一半（圖三、D）。因此後續的細胞分選及混合都以 REPLI-g 試劑套組進行 WGA。後續以 REPLI-g 試劑對於不同混合比例的細胞所進行的 WGA 效率並沒有特別的差異（表一）。

異常細胞種類	混合比例	平均WGA DNA 濃度(ng/μl)
N : 8p del	4:1	638
	3:2	666
	2:3	682
	1:4	726
	0:5	706
N : T18	4:1	616
	3:2	640
	2:3	640
	1:4	684
	0:5	668
N : T21	4:1	640
	3:2	700
	2:3	660
	1:4	672
	0:5	682
Normal	5:0	674

表一、不同混合比例的樣本之 WGA DNA 平均產量。

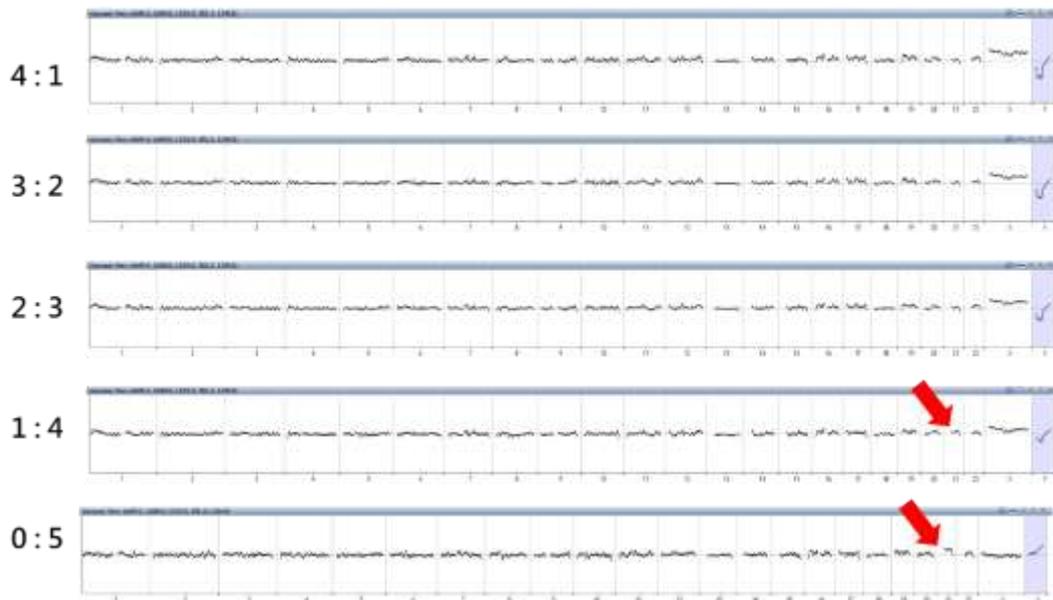
細胞混合結果

不同細胞的混合比例進行基因晶片的結果顯示，不同混合比例的樣本在經過分析之後，在染色體三體症的個案中，僅有異常比例較高的樣本能被檢測到可能為嵌合體（圖四）。

N: T18



N: T21



圖四、染色體三體症個案以不同比例混合的晶片分析結果。

而在 8 號染色體微缺失的樣本，若有和正常細胞混合則很難分辨出其缺失的發生（圖五）。

N : 8p del



圖五、8 號染色體微缺失的混合細胞晶片分析結果。

我們將三種異常和正常細胞混合的晶片結果量化之後為下表（表三）。

異常細胞種類	混合比例	Log ratio	estimated copy no.
N : 8p del	4:1	—	—
	3:2	—	—
	2:3	—	—
	1:4	—	—
	0:5	-1.127	0.92
N : T18	4:1	—	—
	3:2	—	—
	2:3	—	—
	1:4	0.366	2.58
	0:5	0.546	2.92
N : T21	4:1	—	—
	3:2	—	—
	2:3	—	—
	1:4	—	—
	0:5	0.536	2.90

表三、量化基因晶片對於不同比例的結果。

結果討論

分析晶片結果可見，不同比例混合的樣本除非比例很高，否則難以辨識出異常的位置，尤其是較小的 21 號染色體的樣本及 8 和染色體微缺失的樣本，在 18 號染色體則可部分被確認是 T18 的嵌合體（圖四和五），在量化的表格上可在正常與 T18 的混合比例為 1 : 4 的樣本，可以發現符合比例的嵌合狀況，其餘染色體和混合比例則較難辨識。這也可能是混合時異常細胞有所流失，但由於

我們選用的正常細胞（女性）和異常細胞（皆為男性）的性別是相反的，所以可以用 Y 染色體來觀察細胞混合的比例是否正確（圖四和五），在不同比例的混合中，不管是那一種異常，Y 染色體的訊號隨著異常細胞的增加而更增強（從下凹的圖形變成平坦的圖形），因此細胞混合的比例應該是正確的。未來可以再利用 NGS 的方法學，分析相同的樣本，比較不同分析方法對於嵌合體的解析能力。

參考文獻

- Abhari S, Kawwass JF. Pregnancy and Neonatal Outcomes after Transfer of Mosaic Embryos: A Review. *J Clin Med*. 2021;10(7):1369. doi: 10.3390/jcm10071369.
- Capalbo A, Poli M, Rienzi L, Girardi L, Patassini C, Fabiani M, Cimadomo D, Benini F, Farcomeni A, Cuzzi J, Rubio C, Albani E, Sacchi L, Vaiarelli A, Figliuzzi M, Findikli N, Coban O, Boynukalin FK, Vogel I, Hoffmann E, Livi C, Levi-Setti PE, Ubaldi FM, Simón C. Mosaic human preimplantation embryos and their developmental potential in a prospective, non-selection clinical trial. *Am J Hum Genet*. 2021;108(12):2238-2247. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.11.002.
- Eggenhuizen GM, Go A, Koster MPH, Baart EB, Galjaard RJ. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Hum Reprod Update*. 2021;27(5):885-903. doi: 10.1093/humupd/dmab009.
- Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, Scott RT Jr. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014;101(3):656-663.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.11.004.
- Greco E, Minasi MG, Fiorentino F. Healthy Babies after Intrauterine Transfer of Mosaic Aneuploid Blastocysts. *N Engl J Med*. 2015;373(21):2089-90. doi: 10.1056/NEJMc1500421.
- Hahnemann JM, Vejerslev LO. Accuracy of cytogenetic findings on chorionic villus sampling (CVS)--diagnostic consequences of CVS mosaicism and non-mosaic discrepancy in centres contributing to EUCROMIC 1986-1992. *Prenat Diagn*. 1997;17(9):801-20. doi: 10.1002/(sici)1097-0223(199709)17:9<801::aid-pd153>3.0.co;2-e.
- Heffner LJ. Advanced maternal age--how old is too old? *N Engl J Med*. 2004;351(19):1927-1929. doi: 10.1056/NEJMp048087.
- Kalousek DK, Vekemans M. Confined placental mosaicism. *J Med Genet*. 1996;33(7):529-33. doi: 10.1136/jmg.33.7.529.
- Lin PY, Lee CI, Cheng EH, Huang CC, Lee TH, Shih HH, Pai YP, Chen YC, Lee MS. Clinical outcomes of single mosaic embryo transfer: high-level or low-level mosaic embryo, Does it matter?. *J Clin Med*. 2020;9(6):1695. Published 2020 Jun 2. doi:10.3390/jcm9061695.
- Werner M, Reh A, Grifo J, Perle MA. Characteristics of chromosomal abnormalities diagnosed after spontaneous abortions in an infertile population. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(8):817-820. doi: 10.1007/s10815-012-9781-3.
- Wang L, Wang X, Liu Y, Ou X, Li M, Chen L, Shao X, Quan S, Duan J, He W, Shen H, Sun L, Yu Y, Cram DS, Leigh D, Yao Y. IVF embryo choices and pregnancy outcomes. *Prenat Diagn*. 2021;41(13):1709-1717. doi: 10.1002/pd.6042.

- Spinillo SL, Farina A, Sotiriadis A, Pozzoni M, Giglio S, Papale M, Candiani M, Cavoretto PI. Pregnancy outcome of confined placental mosaicism: meta-analysis of cohort studies. *Am J Obstet Gynecol.* 2022:S0002-9378(22)00590-7. doi:10.1016/j.ajog.2022.07.034.
- Spinella F, Fiorentino F, Biricik A, Bono S, Ruberti A, Cotroneo E, Baldi M, Cursio E, Minasi MG, Greco E. Extent of chromosomal mosaicism influences the clinical outcome of in vitro fertilization treatments. *Fertil Steril.* 2018;109(1):77-83. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.09.025.
- Zhang L, Wei D, Zhu Y, Gao Y, Yan J, Chen ZJ. Rates of live birth after mosaic embryo transfer compared with euploid embryo transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(1):165-172. doi:10.1007/s10815-018-1322-2.