

**SF**

中华人民共和国司法行政行业标准

SF/T 0130—2023

同卵双生子个体识别技术规范

Technical specification for individual identification of monozygotic twins

2023 - 10 - 07 发布

2023 - 12 - 01 实施

中华人民共和国司法部 发布



# 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 缩略语 .....	1
5 总体要求 .....	1
6 检验程序 .....	2
7 结果分析 .....	3
8 鉴定文书 .....	3
参考文献 .....	4

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由司法鉴定科学研究院提出。

本文件由司法部信息中心归口。

本文件起草单位：司法鉴定科学研究院、复旦大学、河北医科大学、四川大学。

本文件主要起草人：李成涛、张素华、李淑瑾、丛斌、王正、付丽红、付光平。

# 同卵双生子个体识别技术规范

## 1 范围

本文件规定了同卵双生子个体识别的总体要求、检验程序、结果分析和鉴定文书。  
本文件适用于同卵双生子的认定及甄别。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GA/T 1162 法医生物检材的提取、保存、送检规范  
SF/T 0069 法医物证鉴定实验室管理规范  
SF/Z JD0105008—2018 法医物证鉴定线粒体DNA检验规范  
SF/Z JD0105012—2018 个体识别技术规范  
SN/T 2497.21 进出口危险化学品安全试验方法 第21部分：琼脂糖凝胶电泳试验

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**同卵双生子** *monozygotic twins*

由一个受精卵分裂而发育成的两个个体。

### 3.2

**高通量测序** *high-throughput sequencing*

一种能够一次并行对大量核酸分子进行序列测定的技术。

注：通常一次测序反应能产生不少于100 Mb的数据量。

## 4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DNA：脱氧核糖核酸（Deoxyribonucleic Acid）

LR：似然率（Likelihood Ratio）

PCR：聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction）

STR：短串联重复序列（Short Tandem Repeats）

## 5 总体要求

5.1 同卵双生子个体识别鉴定包括同卵双生子的认定与同卵双生子的甄别。

5.2 鉴定机构应具有从事法医物证的执业范围，且应满足如下要求：

- 对所有影响鉴定结果的人员岗位规定相应的能力要求，包括教育、资质、培训、专业知识和技能等，并保留相关记录，制定适宜的培训计划并组织实施；
- 依据第6章～第8章的规定，对鉴定人以及参与鉴定工作的人员进行监督，以评价其鉴定工作的符合性和满意程度，监督的结果作为培训需求评价的依据之一；
- 具有能识别样本的标识系统，并确保样本在鉴定过程期间能得到持续的识别；

- d) 建立样本的运输、接收、处置、保护、存储、保留和/或清理的规定，能对接收、内部传递、处置、保留、返还和清理等过程进行记录，确保记录的完整性和可追溯性。

5.3 鉴定人应具有法医物证鉴定执业资格，熟悉并掌握同卵双生子个体识别的原理和方法，并能正确评价结果。

5.4 鉴定活动应包括检验[采样、DNA提取和定量、基于毛细管电泳技术的基因座检验和（或）基于高通量测序技术的线粒体全基因组测序]、结果分析以及鉴定文书撰写等环节。鉴定活动结束后，应将各个环节的记录归档。

5.5 实验室的基本要求以及样本管理、设备管理和质量管理等应符合 SF/T 0069 的规定。

## 6 检验程序

### 6.1 采样

应根据鉴定目的选择合适的人体生物学样本进行检测，采样要求如下：

- a) 样本宜为生物学常见检材，如血液（斑）、唾液（斑）、精液（斑）、带毛囊毛发、组织块、骨骼和牙齿等。进行同卵双生子认定时，在可能的情况下，应采集同一种类型的生物检材；进行同卵双生子甄别时，样本应为同一种类型的生物检材，本文件仅适用于血液（斑）或唾液（斑）；
- b) 样本应分别包装，进行唯一性标识并注明样本类型、采样日期和采集人等。
- c) 样本的提取、保存与送检按照 GA/T 1162 执行。

### 6.2 DNA提取和定量

DNA提取和定量要求如下：

- a) DNA提取应主要采用物理、化学或生物酶的方法，释放样本中的基因组DNA，进一步对其进行纯化，充分去除样本中的蛋白质、脂类等PCR反应抑制物以及提取过程中加入的试剂。宜采用与检材状况相适应的方法进行DNA提取；
- b) 提取过程中应避免物理因素（如剪切力、高温等）、化学因素（如强酸、强碱等）和生物因素（如核酸酶）的破坏，保证一级结构的完整性；
- c) 提取过程中应避免外界环境（如灰尘、气溶胶等）对DNA提取的污染；排除其他分子（如蛋白质、多糖、脂类和有机溶剂等）的污染；以及防止试验过程中废弃物对环境的污染；
- d) 宜采用合适的定量方法对提取DNA进行定量，以满足下游实验对DNA质和量的要求。

### 6.3 基于毛细管电泳技术的基因座检验

#### 6.3.1 基因座与PCR扩增

应选用包含人类多态性常染色体STR基因座的商业化检测试剂盒，PCR扩增体系与PCR扩增参数宜按照试剂盒的操作说明书进行。

每批扩增均应有阳性对照样本（已知浓度和基因型的对照品DNA或以前检验过的、已知基因型的样本）以及不含人基因组DNA的阴性对照样本。

#### 6.3.2 PCR产物分型与结果判读

PCR扩增产物的检测和结果判读应符合以下要求：

- a) 使用遗传分析仪对PCR产物进行毛细管电泳分析；
- b) 使用等位基因分型参照物（Ladder）对样本进行分型；
- c) PCR扩增产物的检测步骤和方法按照仪器的操作手册进行。

### 6.4 基于高通量测序技术的线粒体全基因组测序

#### 6.4.1 方法

DNA样本的文库构建与线粒体全基因组检测均应设置2个重复（样本量允许的情况下）。

宜采用长片段PCR方法进行文库构建，文库构建方法宜参照相应的试剂盒说明书，文库质控宜按照 SN/T 2497.21 的方法或定量PCR方法进行。

对构建后文库采用高通量测序技术进行线粒体全基因组检测，测序方法宜参照测序仪厂商提供的标准测序流程。

样本经过高通量测序得到的原始数据，应进行质量控制，去除含接头或低质量的序列，再进行后续分析。每个DNA样本可用数据对应的碱基识别质量值应符合以下要求：

- a) 大于 Q20 的碱基比例大于或等于 90%；
- b) 大于 Q30 的碱基比例大于或等于 85%；

注：测序数据中，Q20的碱基识别正确率为99%，Q30的碱基识别正确率为99.9%。

线粒体测序质量控制应按照SF/Z JD0105008—2018中5.4.3的方法执行，其中实验过程中应设置阳性对照与阴性对照，具体按照SF/Z JD0105008—2018中5.4.3.1的规定。

#### 6.4.2 比对分析

采用比对软件对同卵双生子两个体样本的线粒体测序结果进行比对分析，具体步骤如下。

- a) 筛选有效测序碱基，即同卵双生子两个体样本在该碱基上的测序深度均大于 1000。
- b) 比对同卵双生子两个体样本在有效测序碱基上的分型测序结果差异，其中每个碱基位置上测序深度最大的碱基命名为第一碱基，测序深度其次的碱基命名为第二碱基，分别统计以下差异信息：
  - 1) 第一碱基分型结果不一致；
  - 2) 第一碱基分型结果一致，第二碱基分型结果不一致，且第二碱基的测序深度占比大于 2%。

### 7 结果分析

#### 7.1 同卵双生子的认定与排除

基于常染色体STR基因座检测结果进行同卵双生子认定时，系统的累积个体识别能力计算方法应按照SF/Z JD0105012—2018中第6章的方法执行。

同卵双生子两个体样本的DNA分型结果一致，应计算LR值，鉴定意见可表述为“支持两者为同卵双生子，LR值为XXX”。LR值计算方法应按照SF/Z JD0105012—2018中第7章的方法执行；若存在体细胞突变情形，可单独对该基因座分型结果进行描述。

#### 7.2 同卵双生子的甄别

当两个体的DNA分型结果支持两者为同卵双生子时，可基于以下两种线粒体全基因组测序结果差异进行甄别：

- a) 同卵双生子两个体样本在 2 个或 2 个以上有效测序碱基上存在第一碱基分型结果不一致，且样本重复结果一致；
- b) 同卵双生子两个体样本在 2 个或 2 个以上有效测序碱基上存在第一碱基分型结果一致，第二碱基分型结果不一致，且样本重复结果一致。

### 8 鉴定文书

鉴定文书的格式宜按照主管部门的规定或相关标准执行，且内容符合以下要求：

- a) 描述基因座检测中所使用的检测系统和基因座检验结果；
- b) 描述线粒体全基因组测序中所使用的文库构建方法、测序方法、测序结果以及比对结果；
- c) 按照第 7 章的结果分析给出鉴定意见。

参 考 文 献

- [1] Sims D, Sudbery I, Ilott NE, Heger A, Ponting CP. Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nat Rev Genet.* 2014, 15(2):121-32
- [2] Wang Z, Zhu R, Zhang S, Bian Y, Lu D, Li C. Differentiating between monozygotic twins through next-generation mitochondrial genome sequencing. *Anal Biochem.* 2015, 490:1-6
- [3] Wallace DC, Chalkia D. Mitochondrial DNA genetics and the heteroplasmy conundrum in evolution and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013, 5(11):a021220
- [4] Chen L, Wang J, Tan L, Lu C, Fu G, Fu L, Zhang X, Wang Q, Ma C, Cong B, Li S. Highly accurate mtGenome haplotypes from long-read SMRT sequencing can distinguish between monozygotic twins. *Forensic Sci Int Genet.* 2020, 47:102306
-