



# 同卵双生子鉴别的研究现状及展望

明天悦, 侯一平, 王正\*

四川大学华西基础医学与法医学院, 成都 610041

\* 联系人, E-mail: wangzhengtim@scu.edu.cn

收稿日期: 2019-12-23; 接受日期: 2020-02-07; 网络版发表日期: 2020-04-15

大学生创新创业训练计划(批准号: C2019105725)和法医遗传学公安部重点实验室开放课题(批准号: 2017FGKFKT01)资助

**摘要** 同卵双生子由同一个受精卵发育而成, 理论上具有相同的基因组信息, 运用现行的法医学检测标记及方法难以对同卵双生子进行个人识别. 因此, 如何有效甄别同卵双生子两个体是法医学领域迫切需要解决的难题之一. 本文总结了近年来同卵双生子甄别领域的研究进展, 以期同卵双生子的个人识别提供新的思路.

**关键词** 法医遗传学, 个人识别, 同卵双生子

同卵双生子(monozygotic twins, MZ twins)是由同一个受精卵分裂发育而来的两个个体, 理论上具有完全相同的基因组遗传信息<sup>[1]</sup>. 因此, 运用现行的法医学遗传标记, 如短串联重复序列(short tandem repeat, STR)、插入/缺失(insertion/deletion, InDel)等难以将其区别<sup>[2,3]</sup>. 尽管MZ twins具有相同的遗传信息, 但两者的成长、发育环境存在差别以及受其他因素的影响, 使两者在表观遗传水平以及基因组序列等方面存在一定差异<sup>[2,3]</sup>, 这为有效甄别MZ twins提供了理论基础. 近年来, 在核基因组<sup>[4~11]</sup>、线粒体基因组<sup>[12~16]</sup>、表观遗传学<sup>[17~43]</sup>以及蛋白质水平<sup>[44~48]</sup>等方面, 越来越多的研究表明, MZ twins之间存在一定的差异, 这些研究进展为MZ twins的甄别提供了新的思路. 本文对此进行了详细的介绍.

## 1 DNA水平

### 1.1 拷贝数变异

拷贝数变异(copy number variation, CNV)是一种

长度从1 kb到数Mb的DNA片段拷贝数变异, 主要包括DNA片段的扩增、缺失、插入、倒置等<sup>[4]</sup>. Redon等人<sup>[4]</sup>发现, CNV发生的频率远远高于染色体结构变异, 同时CNV与240个基因的活性变化有关, 其在整个基因组中覆盖的核苷酸总数大大超过单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)的总数. 2008年, Bruder等人<sup>[5]</sup>对19对MZ twins的CNV进行检测, 结果表明, CNV是MZ twins表型差异的重要因素之一, 这提示CNV可作为甄别MZ twins的遗传标记.

2015年, Abdellaoui等人<sup>[6]</sup>使用Affymetrix 6.0芯片对1097对0~79岁的MZ twins血液或口腔拭子样本进行分析, 共检测出556个CNVs, MZ twins间的拷贝数差异大于100 kb. 通过评估不同组织样本DNA发现, CNV的一致性存在显著差异. 同年, McRae等人<sup>[7]</sup>利用Illumina Human 610-Quad芯片研究了376对MZ twins中常染色体CNV的不一致性, 发现其中仅有一对MZ twins的5号染色体上存在约130 kb重复的CNV差异, 这提示在MZ

引用格式: 明天悦, 侯一平, 王正. 同卵双生子鉴别的研究现状及展望. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 966–972

Ming T Y, Hou Y P, Wang Z. Research progress on discrimination of monozygotic twins (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 966–972, doi: 10.1360/SSV-2019-0298

twins中存在较大的CNV差异是比较罕见的. 2017年, Liu等人<sup>[8]</sup>使用Agilent SurePrint G3 human CGH微距阵列芯片对12对22~47岁的健康MZ twins进行检测, 结果显示, 共有1345个位点存在CNV, 其中31个位点是超过50%的MZ twins对共同具有; 同时对比分析其中10对MZ twins全基因组甲基化水平的改变<sup>[27]</sup>, 进一步发现, 在存在CNV的位点上更容易发生甲基化水平的改变<sup>[8]</sup>. 这项研究不仅描述了在全基因组水平分析MZ twins CNV差异的方法, 还展望了利用CNV甄别MZ twins的潜在应用价值.

以上研究表明, MZ twins间确实存在CNV的差异; 但近5年的研究显示, MZ twins出现较大的CNV差异的情况较为罕见, 而在表型不一致的MZ twins中任何CNV差异都极有可能包含相关的致病基因<sup>[5,6,9]</sup>. 目前, CNV是否可以作为甄别MZ twins的有效工具还需要进一步验证, 如在比较不同群体中正常个体MZ twins的CNV分布、不同组织下CNV的稳定性和探索检测MZ twins中CNV的有效方法等方面都有待进一步研究.

## 1.2 单核苷酸多态性

单核苷酸多态性作为第三代遗传标记, 与STR相比具有蕴含信息量大、稳定可靠、PCR产物较短和适用于降解DNA材料等应用优势. 目前, SNP在个人识别应用方面已日趋成熟. 在MZ twins甄别研究中, Weber-Lehmann等人<sup>[10]</sup>利用新一代测序技术(next generation sequencing, NGS)对1对MZ twins的全基因组进行深度测序并发现, MZ twins核基因组序列间存在5个SNPs, 并能遗传到下一代.

虽然目前在核基因组水平上利用SNP甄别MZ twins具有一定的难度, 且利用SNP进行MZ twins的识别还需要大量的实验反复验证; 但随着技术手段的进步, SNP应用在MZ twins个体识别中的优势将不断突显.

## 1.3 线粒体基因组

线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)是核外遗传物质, 人类mtDNA为大小16569 bp的闭合双链分子, 由编码区和非编码区(控制区)组成. mtDNA由于经常暴露于各种氧化反应中, 且无修复系统、不受选择压力的影响, 突变率远大于核基因组DNA<sup>[11,12]</sup>. 基

于此, 线粒体基因组的差异极有可能成为甄别MZ twins的手段之一.

2013年, Bouhlal等人<sup>[13]</sup>利用Illumina HiSeq 2000平台检测了1对MZ twins的mtDNA并发现, 这对MZ twins具有高度相似的mtDNA序列, 但未发现差异>1%的异质性, 检测到的低水平突变有一些可能来源于核基因组线粒体假基因(nuclear mitochondrial pseudogenes, NUMTs). 2015年, Wang等人<sup>[14]</sup>利用Illumina HiSeq 2000平台检测了10对MZ twins血液样本的mtDNA, 在8对MZ twins中观察到点异质性, 并在5对MZ twins中均检测到nt15301位置的碱基差异性, 提示mtDNA是鉴别MZ twins一个较有潜力的遗传标记; 但由于当时技术不成熟, 实验操作繁琐且成本较高, 数据分析和结果解释复杂, 所以无法应用到实际检案中. 同时, 由于上述两项研究检测的样本数量少、结果不完全一致, 故mtDNA在鉴别MZ twins的法医学实践中的应用潜力并未得到强有力证实. 2019年, Ming等人<sup>[15]</sup>利用Ion S5 XL测序系统对6对MZ twins的3种组织类型样本(血液、唾液、毛干)进行分析, 结果表明, 6对同卵双生子间均存在异质性且毛干样本的异质性更加明显, 故更适用于法医学实践中同卵双生子的鉴别. Yuan等人<sup>[16]</sup>报道的一例案件中, 通过全基因组测序并采用扩增阻滞突变系统(amplification refractory mutation system polymerase chain reaction, ARMS-PCR)进行验证, 结果发现, 一对MZ twins的mtDNA上存在的一个SNP有助于确定案件1和2的肇事者, 并且通过扩增子测序(amplicon sequencing)发现的两个异质SNP在所有的4个案件中均有助于排除无辜个体. 上述研究表明, mtDNA深度测序可成为区分MZ twins两个个体的有效方法.

综上, 检测技术和生物信息学的发展为从线粒体基因组水平甄别MZ twins带来了新的契机, 有望更好地应用在刑事案件的侦破之中.

## 2 表观遗传学

表观遗传学是针对不涉及DNA顺序变化所引起的细胞表型和基因表达的可遗传改变, 涉及组蛋白修饰、DNA甲基化、染色质重塑、遗传印记、随机X染色体失活、非编码RNA等<sup>[17,18]</sup>.

早在2005年, Fraga等人<sup>[19]</sup>通过对西班牙40对MZ

twins表型差异的可能机制的探究发现,在DNA甲基化、X染色体失活及组蛋白位点特异性乙酰化上,MZ twins之间存在明显差异,且随着年龄的增长这种差异愈加显著.基于此,国内外法医工作者在利用表观遗传标记,尤其是DNA甲基化、RNA表达水平等标记甄别MZ twins个体方面进行了诸多有益探索.

## 2.1 DNA甲基化

DNA甲基化作为常见的表观遗传现象,是指在DNA甲基化转移酶的作用下,甲基添加到DNA分子的碱基上<sup>[20]</sup>.较于相对稳定的染色体DNA序列,DNA甲基化则处于一种动态变化的过程中,多种疾病的发生发展与其相关;在个体的生长周期中,遗传因素、环境压力或随机因素都可能影响DNA甲基化的修饰水平<sup>[21-24]</sup>.目前,在特定基因和全基因组范畴下均有不少研究表明,MZ twins甲基化水平存在差异(表1).

由表1可以发现,从发现MZ twins的DNA甲基化水平存在明显的差异开始,国内外法医工作者一直在通过大量的实验探究具有重复性的DNA甲基化差异位点和更适用于法医学实践的实验方法,并取得了一定的进展.但值得注意的是,Vidaki等人<sup>[32]</sup>认为,Marqueta-Gracia等人<sup>[31]</sup>的实验数据不足以支撑依据3个年龄相关DNA甲基化位点能鉴别多对同卵双生子的结论.综上,DNA甲基化在不同时间、样本检材和人群中的稳定性,以及DNA甲基化差异发生的热点区域等方面仍需要展开更深入的探索,从而使DNA甲基化能够系统地应用于法医学实践工作当中.

## 2.2 RNA表达水平

microRNA(miRNA)是一种21~25 nt长的单链小分子RNA,广泛存在于真核生物中,通过转录后水平基因表达的调控在细胞分化、增殖、凋亡和疾病过程等多种生物学代谢过程中发挥基础性作用<sup>[33-35]</sup>.与mRNA相比,miRNA分子量小、不易降解,因而具有对案件检材需求量大、检测方便、成本低等优势,这些均有利于其应用于法医学案件中.目前,已有研究证明,MZ twins对存在miRNA表达水平的差异,这提示miRNA存在甄别MZ twins的应用价值.

早期,科学家们关于MZ twins间miRNA表达活性的研究更多地是为了探究疾病的发生机制,并取得了MZ twins之间存在miRNA表达差异的初步证据<sup>[36-38]</sup>.

2018年,应用miRNA芯片技术,方晨等人<sup>[39]</sup>针对1对MZ twins外周血中miRNAs的表达谱进行表达差异的分析,在检测到的509个miRNAs中有96个在外周血中表达量较高且存在差异;运用相同方法,肖超等人<sup>[40]</sup>检测了2对不同年龄、性别的MZ twins间miRNAs的表达并进行差异分析,同时采用qRT-PCR技术对分析所得差异较大的miRNAs进行验证,结果显示,男性MZ twins对共存在74个差异表达的miRNAs,而在女性MZ twins中共有220个miRNAs差异表达.2019年,Fang等人<sup>[41]</sup>通过大规模并行测序技术(massively parallel sequencing, MPS)对4对健康MZ twins血液中的miRNA进行分析发现,在平均每个个体中检测到的158个miRNAs中,有14%的miRNAs在MZ twins间存在表达差异.同年,Xiao等人<sup>[42]</sup>利用miRNA芯片技术对7对不同年龄的MZ twins血液miRNA进行表达活性分析发现,在全部发现的存在表达差异的545个miRNAs中,被2, 3, 4, 5, 6对MZ twins共同具有的表达活性差异的miRNAs分别为2, 5, 22, 53和132个.

目前,应用miRNA甄别MZ twins的技术方法包括:微阵列芯片技术(microarray)、转录组测序技术(RNA sequencing, RNA-seq)和实时荧光定量PCR技术(real-time PCR, qRT-PCR)等.与传统的血清学检测方法比较,miRNA的检测方法对检材需求量大,灵敏度和特异性较高,非常适用于犯罪现场的微量检材.但由于现阶段非疾病状态下的研究数量少、组织样本单一等问题,探究microRNA应用于MZ twins的甄别价值上仍存在一定的局限性.

另外已有研究发现,miRNA表达水平还受到种族影响<sup>[43]</sup>.因此,为了能够运用miRNA甄别MZ twins,在不同种族MZ twins的miRNA表达差异普遍性、不同组织样本miRNA表达活性异同和miRNA表达活性检测方法的适用性等方面都需要更多的实验研究进一步探索.

## 3 蛋白质水平

从蛋白质水平上甄别MZ twins,主要是从抗体上进行探索.抗体是高等动物特异性免疫应答反应所产生的免疫球蛋白,负责特异抗原的识别和清除,而抗体分子的多样性延伸出抗体库的概念<sup>[44]</sup>.早在1993年,Dunlap等人<sup>[45]</sup>研究表明,抗体的产生除受遗传因素控

表 1 2015年至今关于DNA甲基化应用于同卵双生子甄别的研究

Table 1 Research on DNA methylation applied to the discrimination of MZ twins since 2015

| 作者                                       | 研究对象                  | 研究方法                                                                                                                                                      | 研究结果                                                                                                                                                                            |
|------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Du等人 <sup>[25]</sup><br>(2015)           | 4对MZ twins            | 甲基化DNA免疫沉淀反应(methylated DNA immunoprecipitation, MeDIP)分析                                                                                                 | 检测到38个甲基化差异位点, 其中4个位于启动子、17个位于基因内及17个位于基因间区域. 且标记物相关基因与个体生长发育相关.                                                                                                                |
| Xu等人 <sup>[26]</sup><br>(2015)           | 119对MZ twins和57对异卵双生子 | 提取基因组DNA并采用亚硫酸氢盐焦磷酸测序法(bisulfite pyrosequencing)检测 <i>LINE-1</i> 甲基化水平.                                                                                   | 健康MZ twins对存在全局的DNA甲基化差异; 其中 <i>LINE-1</i> 是甄别MZ twins潜在的标记, 在实践中还必须要考虑个体特异性.                                                                                                   |
| Zhang等人 <sup>[27]</sup><br>(2015)        | 10对MZ twins           | 利用Infinium Human-Methylation450 BeadChips芯片技术进行甲基化水平分析. 其中8个个样本分别在第0, 3, 6, 9月获取.                                                                         | MZ twins对有0.087%~1.530%的CpG位点存在差异甲基化. 位于CpG岛上的甲基化位点更适用于MZ twins的鉴别.                                                                                                             |
| Stewart等人 <sup>[28]</sup><br>(2015)      | 5对MZ twins            | 针对 <i>Alu-E2F3</i> 和 <i>Alu-SP</i> 两标志点, 利用高分辨溶解曲线分析其甲基化差异.                                                                                               | <i>Alu-E2F3</i> 甲基化在5对MZ twins、 <i>Alu-SP</i> 甲基化水平在4对MZ twins中表现出明显的差异.                                                                                                        |
| Vidaki等人 <sup>[29]</sup><br>(2017)       | 10对MZ twins           | 对样本血液DNA进行全基因组甲基化分析.                                                                                                                                      | DNA甲基化差异应用于法医学MZ twins甄别具有可行性, 且DNA甲基化差异位点数量对于最终微量DNA分析十分重要.                                                                                                                    |
| Park等人 <sup>[30]</sup><br>(2018)         | 12对MZ twins           | 利用Infinium Human-Methylation 450 BeadChips芯片技术进行全基因组甲基化水平分析, 从480000个CpG位点中为每一对选择了几十到几百个差异甲基化CpG位点, 并进行筛选.                                                | 挑选出来具有重复性的CpG位点: <i>cg00211609</i> , <i>cg26287080</i> , <i>cg01558909</i> , <i>cg21036194</i> , <i>cg01419577</i> , <i>cg04620228</i> . 这些CpG位点的甲基化水平可以作为识别一对MZ twins个体的生物标志物. |
| Marqueta-Gracia等人 <sup>[31]</sup> (2018) | 18对MZ twins           | 挑选位 <i>ITGA2B</i> , <i>ASPA</i> , <i>PDE4C</i> , <i>ZIC5</i> , <i>USP11</i> 和 <i>NOPI4</i> 的6个CpG区域, 并通过高分辨率溶解技术(High Resolution Melting, PCR-HRM)技术进行分析. | 可通过PCR-HRM技术并在这些区域增加使用与年龄相关表观遗传学标记的数量识别MZ twins.                                                                                                                                |

制外, 还受环境等因素的影响. 因此, MZ twins虽理论上具有完全一致的DNA但也存在抗体库差异的可能性. 目前, 已有多位学者对患病MZ twins的抗体库差异进行研究.

2012年, Ninfea等人<sup>[46]</sup>报道的案例中, MZ twins进行静脉注射免疫球蛋白和后续单抗治疗后, 其中一方未发现血栓形成, 而另一方却出现肺血栓和深静脉血栓形成等需要抗凝治疗的症状. 上述现象表明, MZ twins的抗体种类、滴度等可能存在差异. 而基于MZ twins中抗环瓜氨酸肽抗体是决定个体是否患类风湿性关节炎的重要危险因素<sup>[47]</sup>这一研究成果, 2015年, Haj Hensvold等人<sup>[48]</sup>采集了12590对双生子的外周血并使用酶联免疫吸附实验进行抗瓜氨酸抗体检测, 结果表明, 在未患类风湿性关节炎的情况下, MZ twins的抗瓜氨酸抗体的一致率仅为3.7%.

以上研究均表明, 抗体库差异或许可应用于MZ twins的甄别. 但目前实验主要围绕患病MZ twins对的抗体库检测进行, 缺乏应用于法医学中的相关研

究. 同时, 抗体多样性及系统的抗体检测方法的缺乏使抗体库差异应用于法医学实践的可行性还有待考证.

4 结语

MZ twins是由同一个受精卵分裂发育而来的两个个体, 现行的法医学检测手段无法对其进行有效甄别, 这使得涉及MZ twins的案件往往由于无法区分犯罪者而不能告破. 因此, 如何有效甄别MZ twins是法医学领域亟待研究并解决的难题之一. 目前的研究表明, MZ twins在核基因组、线粒体基因组、RNA表达活性、蛋白质水平以及表观遗传学等方面均存在一定程度的差异. 但作为区分MZ twins个体的遗传标记仍需进一步探索其稳定性和实用性等方面的要求, 同时这些遗传标记的检测和分析方法仍需进行大规模地深入研究, 从而为攻克MZ twins的甄别难题提供有效途径.



## 参考文献

- 1 Taylor M J O, Fisk N M. Prenatal diagnosis in multiple pregnancy. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2000, 14: 663–675
- 2 von Wurmb-Schwark N, Schwark T, Christiansen L, et al. The use of different multiplex PCRs for twin zygosity determination and its application in forensic trace analysis. *Leg Med*, 2004, 6: 125–130
- 3 Xu Q N, Li C T, Liu X L. Research progress on discrimination of monozygotic twins (in Chinese). *J Forensic Med*, 2018, 34: 672–677 [徐倩南, 李成涛, 刘希玲. 同卵双生子甄别研究进展. 法医学杂志, 2018, 34, 672–677]
- 4 Redon R, Ishikawa S, Fitch K R, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*, 2006, 444: 444–454
- 5 Bruder C E G, Piotrowski A, Gijsbers A A C J, et al. Phenotypically concordant and discordant monozygotic twins display different DNA copy-number-variation profiles. *Am J Hum Genet*, 2008, 82: 763–771
- 6 Abdellaoui A, Ehli E A, Hottenga J J, et al. CNV concordance in 1,097 MZ twin pairs. *Twin Res Hum Genet*, 2015, 18: 1–12
- 7 McRae A F, Visscher P M, Montgomery G W, et al. Large autosomal copy-number differences within unselected monozygotic twin pairs are rare. *Twin Res Hum Genet*, 2015, 18: 13–18
- 8 Liu X, Zhao Z, Xu Q, et al. Genome-wide copy number variation analysis in monozygotic twins. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*, 2017, 6: e218–e220
- 9 Zhou Q, Guan H J. Detection of copy number variations of *GSTM1* and *GSTT1* gene in age-related cataract by real-time quantitative PCR (in Chinese). *Recent Adv Ophthalmol*, 2014, 34: 838–841 [周婧, 管怀进. 实时荧光定量PCR技术在年龄相关性白内障患者*GSTM1*、*GSTT1*基因拷贝数变异检测中的应用. 眼科新进展, 2014, 34: 838–841]
- 10 Weber-Lehmann J, Schilling E, Grادل G, et al. Finding the needle in the haystack: Differentiating “identical” twins in paternity testing and forensics by ultra-deep next generation sequencing. *Forensic Sci Int Genet*, 2014, 9: 42–46
- 11 Butler J M. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. London: Academic Press, 2011
- 12 Yakes F M, Van Houten B. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 514–519
- 13 Bouhlal Y, Martinez S, Gong H, et al. Twin mitochondrial sequence analysis. *Mol Genet Genomic Med*, 2013, 1: 174–186
- 14 Wang Z, Zhu R, Zhang S, et al. Differentiating between monozygotic twins through next-generation mitochondrial genome sequencing. *Anal Biochem*, 2015, 490: 1–6
- 15 Ming T, Wang M, Zheng M, et al. Exploring of rare differences in mtGenomes between MZ twins using massively parallel sequencing. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*, 2019, 7: 70–72
- 16 Yuan L, Chen X, Liu Z, et al. Identification of the perpetrator among identical twins using next-generation sequencing technology: A case report. *Forensic Sci Int Genet*, 2019, 44: 102167
- 17 Vidaki A, Kayser M. Recent progress, methods and perspectives in forensic epigenetics. *Forensic Sci Int Genet*, 2018, 37: 180–195
- 18 Williams G. The emerging field of forensic epigenetics. *Forensic Sci Int Genet*, 2018, 290: e24–e25
- 19 Fraga M F, Ballestar E, Paz M F, et al. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 10604–10609
- 20 Feinberg A P. Methylation meets genomics. *Nat Genet*, 2001, 27: 9–10
- 21 Jirtle R L, Skinner M K. Environmental epigenomics and disease susceptibility. *Nat Rev Genet*, 2007, 8: 253–262
- 22 Dolinoy D C, Weidman J R, Jirtle R L. Epigenetic gene regulation: Linking early developmental environment to adult disease. *Reprod Toxicol*, 2007, 23: 297–307
- 23 Ding Y, Xu C, Wu J H, et al. Recent progress in epigenetics (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2017, 47: 3–15 [丁勇, 许超, 吴季辉, 等. 表观遗传学研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 3–15]
- 24 Fan S C, Li C Z, Pei Y F. DNA methylome data analysis in human genome (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2015, 45: 450–459 [凡时财, 李承哲, 裴云飞. 人类基因组DNA甲基化数据分析的研究现状. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 450–459]
- 25 Du Q, Zhu G, Fu G, et al. A genome-wide scan of DNA methylation markers for distinguishing monozygotic twins. *Twin Res Hum Genet*, 2015, 18: 670–679
- 26 Xu J, Fu G, Yan L, et al. *LINE-1* DNA methylation: A potential forensic marker for discriminating monozygotic twins. *Forensic Sci Int Genet*,

- 2015, 19: 136–145
- 27 Zhang N, Zhao S, Zhang S H, et al. Intra-monozygotic twin pair discordance and longitudinal variation of whole-genome scale DNA methylation in adults. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0135022
  - 28 Stewart L, Evans N, Bexon K J, et al. Differentiating between monozygotic twins through DNA methylation-specific high-resolution melt curve analysis. *Anal Biochem*, 2015, 476: 36–39
  - 29 Vidaki A, Díez López C, Carnero-Montoro E, et al. Epigenetic discrimination of identical twins from blood under the forensic scenario. *Forensic Sci Int Genet*, 2017, 31: 67–80
  - 30 Park J L, Woo K M, Kim S Y, et al. Potential forensic application of DNA methylation to identify individuals in a pair of monozygotic twins. *Forensic Sci Int Genet Suppl Ser*, 2017, 6: e456–e457
  - 31 Marqueta-Gracia J J, Álvarez-Álvarez M, Baeta M, et al. Differentially methylated CpG regions analyzed by PCR-high resolution melting for monozygotic twin pair discrimination. *Forensic Sci Int Genet*, 2018, 37: e1–e5
  - 32 Vidaki A, Kayser M, Nothnagel M. Unsupported claim of significant discrimination between monozygotic twins from multiple pairs based on three age-related DNA methylation markers. *Forensic Sci Int Genet*, 2019, 39: e1–e2
  - 33 Bartel D P. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, 116: 281–297
  - 34 Zhang B, Stellwag E J, Pan X. Large-scale genome analysis reveals unique features of microRNAs. *Gene*, 2009, 443: 100–109
  - 35 Hammond S M. RNAi, microRNAs, and human disease. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2006, 56: 63–68
  - 36 Perkins D O, Jeffries C D, Jarskog L F, et al. MicroRNA expression in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Genome Biol*, 2007, 89: R27
  - 37 Kim A H, Reimers M, Maher B, et al. MicroRNA expression profiling in the prefrontal cortex of individuals affected with schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophr Res*, 2010, 124: 183–191
  - 38 Sarachana T, Zhou R, Chen G, et al. Investigation of post-transcriptional gene regulatory networks associated with autism spectrum disorders by microRNA expression profiling of lymphoblastoid cell lines. *Genome Med*, 2010, 2: 23
  - 39 Fang C, Zhao J, Zhang X L, et al. A preliminary study of the differential expression pattern of microRNA from peripheral blood between monozygotic twins (in Chinese). *Chin J Forens Med*, 2018, 33: 224–228 [方晨, 赵晶, 张小莉, 等. 同卵双生子外周血miRNA表达差异初步研究. *中国法医学杂志*, 2018, 33: 224–228]
  - 40 Xiao C, He H Y, Liu E L, et al. A preliminary study on the differential expression profile of microRNAs in two pairs of monozygotic twins (in Chinese). *Chin J Forens Med*, 2018, 33: 241–247 [肖超, 何华钰, 刘尔亮, 等. 2对同卵双生子microRNAs表达谱差异分析. *中国法医学杂志*, 2018, 33: 241–247]
  - 41 Fang C, Zhao J, Liu X, et al. MicroRNA profile analysis for discrimination of monozygotic twins using massively parallel sequencing and real-time PCR. *Forensic Sci Int Genet*, 2019, 38: 23–31
  - 42 Xiao C, Pan C, Liu E, et al. Differences of microRNA expression profiles between monozygotic twins' blood samples. *Forensic Sci Int Genet*, 2019, 41: 152–158
  - 43 Ma L, Hong Y, Lu C, et al. The occurrence of cervical cancer in Uygur women in Xinjiang Uygur Autonomous Region is correlated to microRNA-146a and ethnic factor. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8: 9368–9375
  - 44 Dai H P. Genesis, development and application prospect of antibody library: A review (in Chinese). *Chin J Biotechnol*, 2011, 27: 690–697 [戴和平. 抗体库的起源、发展及应用前景. *生物工程学报*, 2011, 27: 690–697]
  - 45 Dunlap N E, Ballinger S, Reed T, et al. The use of monozygotic and dizygotic twins to estimate the effects of inheritance on the levels of immunoglobulin isotypes and antibodies to phosphocholine. *Clin Immunol Immunopathol*, 1993, 66: 176–180
  - 46 Ninfa J I R, Basquiera A L, Tabares A H, et al. Immune thrombocytopenia with antiphospholipid antibodies in monozygotic twins. *Platelets*, 2012, 23: 309–311
  - 47 Svendsen A J, Hjelmberg J V, Kyvik K O, et al. The impact of genes on the occurrence of autoantibodies in rheumatoid arthritis. A study on disease discordant twin pairs. *J Autoimmun*, 2013, 41: 120–125
  - 48 Haj Hensvold A, Magnusson P K E, Joshua V, et al. Environmental and genetic factors in the development of anticitrullinated protein antibodies (ACPAs) and ACPA-positive rheumatoid arthritis: An epidemiological investigation in twins. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74: 375–380

## Research progress on discrimination of monozygotic twins

MING TianYue, HOU YiPing & WANG Zheng

*West China School of Basic Medical Sciences & Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China*

Monozygotic (MZ) twins, considered to be genetically identical, cannot be distinguished from one another by standard forensic testing. Therefore, it is an urgent problem to develop effective methods to discriminate between MZ twins in forensic field. This paper summarizes the research progress on discrimination of MZ twins, which might provide new insights into forensic identification of MZ twins.

**forensic genetics, personal identification, monozygotic twins**

**doi:** [10.1360/SSV-2019-0298](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0298)