



中华人民共和国国家标准

GB/T 40172—2021

哺乳动物细胞交叉污染 检测方法通用指南

General guidance on detection methods of mammalian cell
cross-contamination

2021-05-21 发布

2021-12-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目 次

前言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 缩略语	2
5 检测的基本原则	2
6 检测方法的类别	3
7 检测方法的选择	5
8 样品、试剂和仪器	6
9 质量控制	7
10 报告	7
附录 A (资料性) 细胞交叉污染检测方法	9
附录 B (资料性) 细胞交叉污染检测报告参考模板	10
参考文献	11

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。

本文件由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本文件起草单位：深圳华大生命科学研究院、安徽环球基因科技有限公司、深圳吉诺因生物科技有限公司、成都柏奥特克生物科技股份有限公司、通用生物系统(安徽)有限公司。

本文件主要起草人：张曦、岳建辉、李波、侯勇、马启旺、雍金贵、孙长斌、喻明军、卢锦、李森、陈坤、缪连军、黄林、梁智杰。

哺乳动物细胞交叉污染 检测方法通用指南

1 范围

本文件提供了哺乳动物细胞交叉污染检测的基本原则、方法的类别和选择、样品、试剂和仪器等方面的指导。

本文件适用于哺乳动物细胞(如人源细胞)的交叉污染检测。

本文件不适用于非哺乳动物细胞的交叉污染检测。

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。

ISCN(2020) 人类细胞遗传学国际命名体制(2020 版)(An International System for Human Cytogenetic Nomenclature)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

细胞系 **cell line**

由原代细胞或细胞群经传代培养而获得的具有非均质性特征的细胞群。

[来源:ISO 21427-2:2006,3.1]

3.2

细胞交叉污染 **cell cross-contamination**

细胞在分离、培养等过程中,与来源于种属内或种属外的非目标细胞之间发生的相互污染。

3.3

种属间细胞交叉污染 **inter-species contamination of cells**

来源于两种或者两种以上不同种属的细胞发生混合。

3.4

种属内细胞交叉污染 **intra-species contamination of cells**

来源于同一种属内的同类型细胞(不同个体)或不同类型的细胞(相同或不同个体)发生混合。

3.5

短串联重复序列 **short tandem repeat**

重复序列为 2 到 13 个碱基对,重复次数可以为 5 次到上百次,且不同的重复序列以相邻形式排列的基因片段。

[来源:ISO 25720:2009,4.26]

3.6

聚合酶链式反应 **polymerase chain reaction**

通过 DNA 互补双链解链、退火和聚合延伸的多次循环来扩增 DNA 特定序列的方法。

[来源:SN/T 1195—2003,3.2,有修改]

3.7

单核苷酸多态性 **single nucleotide polymorphism**

一种发生在基因组特定位置的单个核苷酸 A、T、C 或 G 的变异而引起的 DNA 序列的改变,且在人群中以明显的频率发生(比如>1%),造成的包括人类在内的物种之间染色体基因组的多样性。

[来源:ISO 25720:2009,4.23]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CO1:细胞色素 c 氧化酶 1(cytochrome c oxidase subunit 1)

CYTB:细胞色素 b(cytochrome b)

DNA:脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid)

FACS:荧光激活细胞分选技术(fluorescence-activated cell sorting)

G6PD:葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase)

HLA:人类白细胞抗原(human leukocyte antigen)

LDH:乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)

MEF:小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts)

MD:苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase)

NP:核苷磷酸化酶(nucleoside phosphorylase)

PCR:聚合酶链式反应(polymerase chain reaction)

RNA:核糖核酸(ribonucleic acid)

SNP:单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism)

STR:短串联重复序列(short tandem repeats)

5 检测的基本原则

5.1 检测内容

5.1.1 为获得准确的检测结果,细胞交叉污染的检测范围宜包括:种属间细胞交叉污染检测、种属内细胞交叉污染检测和细胞专属特性检测。

5.1.2 种属间细胞交叉污染主要是因来源不同种属(两种或以上)的细胞之间发生混合导致,因此根据种属之间的生物学特征差异进行检测是非常重要的,这些生物学特征一般包括:

- 生物化学特征(如同工酶、表面抗原);
- 细胞遗传学特征(如染色体核型、标记染色体);
- 免疫学特征(如组织相容性抗原、特异性免疫血清)。

5.1.3 种属内细胞交叉污染主要是由同一种属的不同个体的细胞之间发生混合导致,因此根据不同个体间的差异特征进行检测是十分重要的,这些生物学特征一般包括:

- 形态学特征(如圆形、长梭形、聚团生长等);
- 遗传标记(STR、SNP)等。

5.1.4 细胞专属特性的检测可以根据细胞表面标记物、报告基因、形态特征及表达产物等采用合适的

特征进行检测。

5.2 检测时间

5.2.1 对于原代培养的细胞,宜在细胞培养的早期阶段(第一周)就进行细胞交叉污染的检测;哺乳动物细胞(含人源细胞)在细胞冻存前进行细胞交叉污染检测也是十分重要的。

5.2.2 对于需要长期培养或者生长活跃的细胞,定期进行细胞交叉污染检测是至关重要的;在试验或者生产开始前,通过确认形态特征、培养特性是否与目标细胞一致也是十分必要的。

6 检测方法的类别

6.1 概述

细胞交叉污染检测常用的方法共有 9 种,包括细胞形态检测法、同工酶谱检测法、染色体核型检测法、HLA 基因型检测法、PCR 检测法、STR 基因分型检测法、SNP 检测法、流式检测法和免疫荧光染色检测法。细胞交叉污染检测方法的分析见附录 A。

6.2 细胞形态检测法

6.2.1 细胞形态检测法一般通过对细胞生长形态、生长特性等特征进行检测,初步判断是否发生细胞交叉污染。细胞形态检测法适用于贴壁生长的细胞发生的交叉污染检测,不适用于悬浮生长的细胞。

6.2.2 细胞形态检测法的检测指标一般包括细胞形态(如圆形、梭形等)、细胞直径、细胞体积。由于较低的检测准确性,若通过细胞形态检测法检测出细胞可能出现交叉污染,选择其他的检测方法进一步验证和确认是十分重要的。

6.3 同工酶谱检测法

6.3.1 由于不同种属来源的细胞在同工酶谱分布上具有差异,通过凝胶电泳分离后,对电泳带型和相对迁移距离进行检测,可用于细胞交叉污染的检测。

6.3.2 同工酶谱检测法适用于种属间的细胞交叉污染检测。

注:同工酶谱检测法可能具有较低的灵敏度,在细胞污染量较小(<10%)情况下,该法可能无法准确检测种属间细胞交叉污染。

6.3.3 采用同工酶谱检测法进行细胞交叉污染检测时,检测葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)、乳酸脱氢酶(LDH)、苹果酸脱氢酶(MD)和核苷磷酸化酶(NP)是十分重要的。

6.3.4 若待检细胞样品的同工酶迁移率与标准对照品不一致或者存在多个酶谱条带,可以判定该细胞样品存在种属间的细胞交叉污染。

6.4 染色体核型检测法

6.4.1 染色体核型检测法可以根据细胞染色体的形态、结构、数目、长度、着丝点位置、臂比、随体大小等特征进行细胞交叉污染的检测。

6.4.2 染色体核型检测法适用于种属间的细胞交叉污染检测;转化细胞可能出现非整倍体和异倍体,染色体核型检测法不适用此类型细胞的交叉污染检测。

注:亲缘关系接近的灵长类动物细胞的染色特征比较接近,采用该法进行鉴定需仔细辨别每一谱带的特点。

6.4.3 染色体核型检测宜根据《人类细胞遗传学国际命名体制(2020 版)》建立的 G 显带法进行核型检测和描述。

6.4.4 若待检细胞样品的染色体特征(如数量、结构、标记物)与目标细胞核型检测结果不一致,可以判定该细胞存在种属间细胞交叉污染。

6.5 HLA 基因型检测法

6.5.1 HLA 因其高度多态性而成为最能代表个体特异性并伴随个体终身的稳定的遗传标志,在无关个体之间 HLA 型别完全相同的几率极低,因此通过检测细胞的 HLA 基因型可以确定细胞是否存在交叉污染。

6.5.2 由于 HLA 基因型只存在人体中,HLA 基因分型检测法适用于不同人源细胞之间(种属内)的交叉污染检测。

6.5.3 HLA 基因型检测法宜采用序列特异性引物进行 PCR 扩增,并结合第二代测序技术进行 HLA 高分辨的分型检测。

6.5.4 若待检细胞样品的 HLA 基因分型结果与目标细胞存在明显差异,可以判定该人源细胞存在种属内细胞交叉污染。

6.6 PCR 检测法

6.6.1 PCR 检测法是基于种属间进化保守性差异建立的细胞交叉污染检测方法,具有较高的灵敏度和特异性。目前,细胞色素 b(cytochrome b,CYTB)和细胞色素 c 氧化酶 1(cytochrome c oxidase subunit 1,CO1)等保守基因在不同种属间具有较大差异,已被用于进行细胞交叉污染的检测。

6.6.2 PCR 检测法目前主要适用于种属间的细胞交叉污染检测。

6.6.3 采用基于 CO1 的 PCR 检测法进行种属间细胞交叉污染检测时,检测方法和结果判定参考 ANSI/ATCCASN-0003—2015。

6.7 STR 基因分型检测法

6.7.1 STR 基因分型检测法是依据不同个体来源的细胞在 STR 位点的多态性,通过同时扩增和检测多个 STR 位点获得 STR 图谱,检测细胞是否存在交叉污染,具有高灵敏度、高鉴别能力和标准化自动分型等特征。

6.7.2 STR 基因分型检测法适用于种属内的细胞交叉污染检测。

6.7.3 采用 STR 基因分型检测法进行人源细胞交叉污染检测时,检测的 STR 位点宜包含:D13S317,TH01,D5S818,D16S53,TPOX,D7S820,CSF1PO,vWA 和性别决定位点 Amelogenin (AMEL)。

6.7.4 采用 STR 基因分型检测法进行人源细胞系交叉污染(不同个体)时,检测方法和结果判定可参考 ANSI/ATCCASN-0002—2011。

6.8 SNP 检测法

6.8.1 SNP 检测法是依据基因组上多个位点的单个核苷酸变异形成的遗传标记,通过对其多个位点的 SNP 图谱的进行联合分析,从而可以检测是否存在细胞交叉污染。

6.8.2 SNP 检测法适用于种属内的细胞交叉污染检测。

6.8.3 采用 SNP 进行种属内细胞交叉污染检测时,基于检测灵敏度的考虑,宜检测的 SNP 位点数不少于 48 个。

6.8.4 若待检细胞样品与目标细胞的 SNP 基因型检测结果不一致,可判定该细胞样品存在种属内细胞交叉污染。

6.9 流式检测法

6.9.1 流式检测法可以采用流式细胞分析技术,通过检测细胞特异性标记物的表达及比例,进而确认待检细胞样品是否为目标细胞。

6.9.2 流式检测法适用于细胞专属特性的检测。

6.9.3 选择细胞特异性的阳性或阴性标记分子对流式检测法十分重要,通过检测这些标记分子的数量和比例可以鉴定细胞专属特性。

6.10 免疫荧光染色检测法

6.10.1 部分细胞具有特异性抗原或受体标记(如特异性蛋白),免疫荧光染色检测法通过将不影响抗原抗体活性的荧光色素标记在抗体(或抗原)上,与其相应的抗原(或抗体)结合后,可以在荧光显微镜下观察和检测细胞的生物学特征。

6.10.2 免疫荧光染色检测法适用于细胞专属特性的检测;部分种属细胞具有特异性的抗体,通过免疫荧光染色也适用于部分种属间细胞交叉污染检测。

6.10.3 在进行免疫荧光染色检测时,选择具有典型性和特异性的抗原或受体标记,对于有效鉴定细胞专属特性十分重要。

7 检测方法的选择

7.1 选择原则

7.1.1 在实施细胞交叉污染检测时,宜按细胞具体的培养环境和培养条件,根据细胞污染类型、污染源、污染程度、检测目的等因素,选择合适的策略和方法进行细胞交叉污染检测。

7.1.2 细胞污染类型通常包含种属间细胞交叉污染和种属内细胞交叉污染;细胞污染来源通常包含细胞共培养交叉污染、细胞接触交叉污染、非规范操作交叉污染;检测目的一般包含验证性检测和细胞分离检测。

7.2 污染类型

7.2.1 种属间细胞交叉污染

7.2.1.1 当同时培养不同种属的细胞用于生产或者试验时,种属间的细胞交叉污染风险较大,宜主要考虑进行种属间的细胞交叉污染检测。

7.2.1.2 种属间细胞交叉污染宜采用染色体核型检测法、同工酶谱检测法、PCR 检测法中的一种或多种方法进行检测。

7.2.2 种属内细胞交叉污染

7.2.2.1 若只涉及同一种属来源的细胞培养物,如部分细胞存储机构只涉及人类细胞资源存储,细胞交叉污染可主要考虑种属内的细胞交叉污染。

7.2.2.2 种属内细胞交叉污染宜采用 STR 基因分型检测法、SNP 检测法、HLA 基因型检测法中的一种或多种方法进行检测。

7.2.2.3 在原代细胞培养时,目标细胞可能会被其他组织/部位来源的细胞污染,对细胞专属特性进行检测和鉴定是十分必要的。细胞专属特性的检测宜采用流式检测法或免疫荧光染色检测法。

7.3 污染来源

7.3.1 共培养交叉污染

7.3.1.1 部分细胞系需要与其他种属来源的滋养层细胞进行共培养,例如胚胎干细胞的培养通常需要 MEF 作为滋养层进行共培养,细胞交叉污染的风险主要在于 MEF 的污染。

7.3.1.2 对于不同种属(如人和小鼠)的细胞因共培养导致的交叉污染,宜采用同工酶谱检测法或 PCR

检测法。

7.3.2 细胞接触交叉污染

7.3.2.1 部分人源肿瘤细胞系的构建需要将肿瘤组织进行异体移植培养,细胞交叉污染风险主要宜考虑宿主动物的细胞的污染,细胞交叉污染的检测既要考虑种属间的细胞交叉污染,也要考虑肿瘤细胞的专属特性。

7.3.2.2 对于由特定宿主细胞引起的交叉污染,宜采用 PCR 检测法进行细胞的种属检测;并采用流式检测法或免疫荧光染色检测法对肿瘤细胞专属特性进行检测。

7.3.3 非规范操作交叉污染

若实验或者生产人员由于非规范操作(如同时操作多株细胞或者试剂耗材公用)而导致细胞出现交叉污染,因为无法判断细胞污染的来源和类型,宜依据 5.1 选择合适的方法分别进行种属间、种属内细胞交叉污染和细胞专属特性的检测。

7.4 检测目的

7.4.1 身份鉴定

7.4.1.1 从外部细胞资源库或机构购买的细胞系,为了验证细胞系的准确身份,细胞交叉污染的检测宜按照 5.1 进行种属间、种属内细胞交叉污染及细胞专属特性的检测。

7.4.1.2 若需要检测目的细胞是否被某一特定类型细胞污染,基于细胞专属特性的检测策略更为适合,细胞形态检测法联合流式检测法或免疫荧光染色检测法可以取得更精确的检测结果。

7.4.2 细胞分离

部分细胞培养物包含多种亚型的细胞群体,可能需要对细胞群体进行分离和筛选。宜采用流式检测法(如 FACS)进行分选或检测。

7.5 污染程度

7.5.1 早期或者原代培养的细胞,污染细胞数量一般较少,宜采用检测灵敏度较高的一种或者多种方法进行细胞交叉污染检测。

7.5.2 对于种属内的细胞交叉污染检测,STR 基因分型检测法具有较高的灵敏度和成熟的检测标准。

7.5.3 对于种属间的细胞交叉污染检测,PCR 检测法具有较高的灵敏度,同工酶谱检测法灵敏度相比较低。

8 样品、试剂和仪器

8.1 样品

8.1.1 细胞交叉污染检测的样品可以分为细胞样品和核酸样品。

8.1.2 细胞样品包括新鲜培养的细胞和冻存的细胞。新鲜细胞的保存和运输宜在 2 °C ~ 10 °C,保存和运输时间不宜超过 24 h;冻存的细胞样品宜在液氮中保存,并采用干冰进行运输。

8.1.3 用于染色体核型检测的细胞样本,宜采用有丝分裂中期的细胞进行检测。

8.1.4 核酸样品一般是基因组 DNA,基因组 DNA 宜在 -80 °C 保存,并采用干冰进行运输。

8.2 试剂

8.2.1 细胞交叉污染检测的主要试剂一般包括同工酶谱分析试剂、PCR 扩增试剂、STR 基因扩增和检

测试剂、SNP 探针和流式抗体等,这些检测试剂宜从具备专业资质并经过验证核实的供应商处采购,且具备检验合格证明文件。

8.2.2 细胞交叉污染检测试剂宜严格按照使用方法正确使用,并建立严格的文件记录制度,包括试剂的标识、使用时间等信息。

8.3 仪器设备

8.3.1 细胞交叉污染检测使用的主要仪器包括:光学显微镜(细胞形态检测法、染色体核型检测法)、分光光度计(同工酶谱检测法)、蛋白电泳仪(同工酶谱检测法)、PCR 仪(PCR 检测法、STR 基因分型检测法)、高通量测序仪(STR 基因分型检测法、SNP 检测法)、流式细胞仪(流式检测法)、荧光显微镜(免疫荧光染色检测法)。

8.3.2 用于细胞交叉污染检测的仪器宜符合预期要求的性能参数和规格。

8.3.3 仪器设备的使用可依据标准操作程序进行,最重要的是制定详细、清楚的检测和分析设备操作规程。

8.3.4 定期对仪器性能进行检定或校准是检测结果准确的重要因素。

9 质量控制

9.1 人员

9.1.1 检测技术人员宜由具备分子生物学或细胞生物学教育(专业)背景的人员担任。

9.1.2 检测技术人员宜具备细胞培养的相关工作经验,掌握细胞交叉污染检测和预防的相关知识。

9.1.3 检测技术人员宜接受适当的内部或者外部培训,培训的内容包括但不限于以下内容:

- 细胞培养技术,包括无菌实验室操作技能;
- 掌握细胞系生物学特性;
- 掌握细胞污染的鉴别和预防知识;
- 环境控制;
- 定期进行人员的测量能力考核。

9.2 环境

9.2.1 细胞交叉污染检测的环境宜满足生物安全一级(BSL-1)实验室要求,并遵循分区明确、单一流向、因地制宜、方便使用的原则,避免交叉污染。

9.2.2 对于 BSL-2 及以上级别的细胞系,细胞交叉污染检测宜在对应等级的生物安全柜中进行。

9.3 方法验证

9.3.1 细胞交叉污染检测方法的验证,最重要的是对检测方法的准确性、灵敏度、特异性及适用范围进行验证。

9.3.2 设立阴性、阳性对照对于确保每次细胞交叉污染检测的质量是十分重要的。如对照组与预期结果不相符时,进行原因分析并采取纠正措施,形成书面记录。

9.3.3 在可获得的情况下,采用细胞交叉污染标准物质,进行方法验证、实验分析过程的质量控制、定期进行检测能力审核。

10 报告

细胞交叉污染检测报告宜包括足够的细节以保障可以对细胞交叉污染检测结果进行独立评估,检

测报告参考模板见附录 B。报告内容包括但不限于以下内容：

- a) 客户信息,包括:单位、送样人信息、日期;
- b) 样本信息,包括:样本编号、样本名称、样本规格、样本数量、样品描述(来源、种属、类型、特性等);
- c) 检测方法,包括:检测方法编号、方法描述、检测有效标准、技术规范等;
- d) 检测结果及分析;
- e) 检测结论;
- f) 偏差描述。

附 录 A
(资料性)
细胞交叉污染检测方法

细胞交叉污染检测方法分析见表 A.1。

表 A.1 细胞交叉污染检测方法

检测方法	检测范围	灵敏度	优点	缺点
细胞形态检测法	种属间	低	检测方便	无法检测悬浮细胞,准确性低
同工酶谱检测法	种属间	低	应用广泛,检测时间短	主观判断可能会影响检测结果,灵敏度低
染色体核型检测法	种属间	低	适用于二倍体细胞和干细胞	成本高、检测程序繁琐,技术人员素质要求高
HLA 基因型检测法	种属间	高	准确度高	分型鉴定要求高
PCR 检测法	种属间	高	特异性和灵敏度高	—
STR 基因分型检测法	种属内	高	灵敏度高,有标准就检测程序参考	目前仅适用人源细胞交叉污染检测
SNP 检测法	种属内	高	灵敏度和准确度高	无标准参考
流式检测法	细胞特性	高	特异性和准确度高	—
免疫荧光染色检测法	细胞特性	高	操作简单	非特异性染色影响检测灵敏度

附 录 B

(资料性)

细胞交叉污染检测报告参考模板

细胞交叉污染检测报告模板见表 B.1。

表 B.1 细胞交叉污染检测报告模板

1.客户信息			
单位		送检人姓名	
送检人联系电话		送样日期	
2.样品信息			
样本编号		样本名称	
样本规格		样本数量	
样品描述(来源、种属、类型、特性等)	细胞种属		
3.检测信息			
检测方法编号:			
检测方法描述:			
检测指标/技术规范:			
4.检测结果及分析			
5.检测结论			
6.偏差描述			
7.异常情况描述			
检测人及日期:		核验人及日期:	批准人及日期:

参 考 文 献

- [1] SN/T 1195—2003 大豆中转基因成分的定性 PCR 检测方法
- [2] 中华人民共和国药典(三部)(2020 年版)
- [3] ISO 21427-2:2006 水质 通过测量微核诱导评估生物毒性 第 2 部分:使用细胞链 V79 型混合种群法(Water quality—Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei—Part 2: Mixed population method using the cell line V79)
- [4] ISO 25720:2009 健康信息学 基因序列变异置标语言(GSVML)[Health informatics — Genomic Sequence Variation Markup Language (GSVML)]
- [5] ANSI/ATCCASN-0002—2011 人类细胞系的身份鉴别:标准化的 STR 分析(Authentication of Human Cell Lines: Standardization of STR Profiling)
- [6] ANSI/ATCCASN-0003—2015 基于线粒体细胞色素氧化酶亚基 1(CO1)DNA 条形码鉴定动物细胞种属 [Species-Level Identification of Animal Cells through Mitochondrial Cytochrome Oxidase Subunit 1 (CO1) DNA Barcodes]
- [7] Castro F1, Dirks WG, Fähnrich S, Hotz-Wagenblatt A, Pawlita M, Schmitt M. High-throughput SNP-based authentication of human cell lines. *Int J Cancer*.2013.
- [8] Didion JP, Buus RJ, Naghashfar Z, Threadgill DW, Morse HC 3rd1, de Villena FP. SNP array profiling of mouse cell lines identifies their strains of origin and reveals cross-contamination and widespread aneuploidy. *BMC Genomics*. 2014.
- [9] FANRONG KONG, GREGORY JAMES et al. Species-Specific PCR for Identification of Common Contaminant Mollicutes in Cell Culture. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*.2001.
- [10] Hay RJ (2000) . *Animal cell culture, a practical approach*. IRLPress, Oxford.
- [11] Hay RJ. *Methods of tissue engineering*. Academic Press, 2002. New York.
- [12] Hay RJ, Chen TR, Macy ML, Reid YA. Reply to “cells lines and DNA fingerprinting”. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1992.
- [13] ICH H U. Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products, ICH[J]. 2001.
- [14] Kazuyoshi Hosomichi, Takashi Shiina, Atsushi Tajima and Ituro Inoue. The impact of next-generation sequencing technologies on HLA research. *Journal of Human Genetics*.2015.
- [15] Mamie Yu, Suresh K. Selvaraj et al. Resource for cell line authentication, annotation and quality control. *Nature*. 2015.
- [16] Nims RW, Shoemaker AP, Bauernschub MA, Rec LJ, Harbell JW. Sensitivity of isoenzyme analysis for the detection of interspecies cell line cross-contamination. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 1998.
- [17] Smith LK. HLA typing by direct DNA sequencing. *Methods Mol Biol*.2012.
- [18] R. Ramya T. Nagarajan V et al. Identification of cross-contaminated animal cells by PCR and isoenzyme analysis. *Cytotechnology*. 2009.
-