

研究简报

54例人肺癌细胞系的交叉污染情况分析

方未英* 刘毅 徐兰 顾婷玉 陈跃磊

(中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所,
国家模式与特色实验细胞资源库, 上海 200031)

摘要 该研究旨在鉴定国内实验室肺癌细胞系使用的正确性, 对从国内多个实验室收集的54例人肺癌细胞样品提取基因组DNA, 使用PCR技术扩增短串联重复序列(short tandem repeat, STR)后进行毛细管电泳, 获得细胞的STR图谱。与国际数据库中已知细胞系的STR图谱进行比对, 通过计算匹配度确认细胞系的身份信息, 判断细胞是否存在交叉污染。结果表明54例肺癌细胞样品中存在交叉污染的有14例, 错误率为25.93%(14/54)。其中51例常见人肺癌细胞样品的错误率为27.45%(14/51), 3例中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所科学家建立的人肺癌细胞系样品的错误率为0%(0/3)。该研究针对国内细胞系交叉污染的情况, 分析了其原因并提出了相应的建议。

关键词 短串联重复序列分型; 人肺癌细胞系; 交叉污染

Analysis of Cross-Contamination in 54 Human Lung Cancer Cell Lines

FANG Weiyang*, LIU Yi, XU Lan, GU Tingyu, CHEN Yuelei

(National Collection of Authenticated Cell Cultures, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology,
Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract This study aimed to authenticate the correctness of human lung cancer cell lines commonly used in Chinese labs. Genomic DNA was extracted from 54 human lung cancer cell samples collected from several domestic labs, STR (short tandem repeat) sequences were amplified by PCR, and capillary electrophoresis was performed to obtain the STR profiles of these cells. When compared to their known STR profiles released in the international databases, the identity information of these cell lines was confirmed by the matching rate, and cell cross-contamination was determined. The results showed that 14 of the 54 cell lines were cross-contaminated, with an error rate of 25.93% (14/54). The error rate of 51 common human lung cancer cell samples was 27.45% (14/51), and the error rate of three samples of human lung cancer cell lines established by the scientists in Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences was 0% (0/3). The causes of cross-contamination of cell lines in Chinese labs were analyzed, and solutions for this serious phenomenon were proposed.

Keywords short tandem repeat typing; human lung cancer cell line; cross-contamination

收稿日期: 2024-06-06

接受日期: 2024-07-12

科技部国家科技资源共享服务平台、中国科学院战略生物资源技术支撑体系专项(批准号: CZBZX-1)和中国科学院技术支撑人才专项资助的课题

*通信作者。Tel: 021-54921358, E-mail: wyfang@sibcb.ac.cn

Received: June 6, 2024

Accepted: July 12, 2024

This work was supported by the National Science and Technology Infrastructure, the Biological Resources Program of Chinese Academy of Sciences (Grant No.CZBZX-1) and the Technical Talents Program of CAS

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921358, E-mail: wyfang@sibcb.ac.cn

肺癌是全世界致死率最高的癌症之一,其五年生存率仅为15%。为了探究肺癌的发生和转移机制,并加速肺癌治疗药物的研发与筛选,每年都会开展大量的相关研究工作。正确的肺癌细胞系作为关键的研究工具,确保了生物医药实验的准确性和可靠性。为了评估国内实验室中使用的肺癌细胞系的准确性,国家模式与特色实验细胞资源库从国内多个实验室收集获得了54例人肺癌细胞样品,并对它们进行了短串联重复序列(short tandem repeat, STR)鉴定。STR也称微卫星DNA(microsatellite DNA),其基本构成单元(核心序列)长度为1~6 bp,这些核心序列的排列方式和重复次数在不同个体间存在显著差异,这导致了STR基因座的高度遗传多态性,从而能够有效地区分个体身份,STR鉴定作为人源细胞身份鉴定金标准,被广泛运用于人源细胞的身份确认^[1-3]。

实验细胞

本库于2016—2023年间从国内多个实验室收集了50种人肺癌细胞系,共计54例细胞样品,不同实验室来源的同一细胞系被认定为不同样品。其中包括常见的人肺癌细胞系51例,以及中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所(简称CEMCS, CAS)自主建立的人肺癌细胞系3例。

主要试剂

RPMI 1640培养基、MEM培养基、DMEM培养基、Waymouth's MB752/1培养基、胎牛血清、胰酶购自美国Gibco公司;DNA提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司;STR扩增试剂盒购自北京微量基因技术股份有限公司。

基因组DNA提取

在细胞培养过程中,对54例细胞样品分别收集 1×10^6 个细胞,提取细胞DNA并检测DNA的纯度和质量。

STR分型

将提取的DNA稀释到1 mg/L后,使用荧光标记的多重PCR技术扩增8个STR位点(CSF1PO、D5S818、D7S820、D13S317、D16S539、TH01、TPOX、

vWA)和一个性别鉴定位点AM(amelogenin),使用ABI 3730xl型遗传分析仪对PCR产物进行毛细管电泳,使用GeneMapperID-X软件(Applied Biosystems)对检测结果进行分析。采用Excel软件对输出结果进行整理、统计,分析得到STR信息。

数据分析

根据ASN-0002-2021标准^[4],运用获得的STR信息进行细胞系身份的验证和确认。首先在德国微生物与细胞保藏中心(German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ)公开的在线STR数据库(<https://celldive.dsmz.de/str/search>)中对STR信息进行比对分析,该数据库中包含了来自ATCC(American Type Culture Collection)、DSMZ、JCRB(Japanese Collection of Research Bioresources)和RIKEN BRC(RIKEN Bioresource Research Center)的3 600条人源细胞的STR数据。对于在DSMZ数据库中未100%匹配的细胞系,使用Cellosaurus CLASTR(<https://www.cellosaurus.org/str-search/>)数据库进行补充比对。该数据库包含共计8 705条人源细胞的STR数据信息,在DSMZ数据库的基础上还进一步整合了多个渠道的STR数据,包括已发表文献、肿瘤体细胞突变目录(Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, COSMIC)^[5]和其他国际细胞库如CLS(Cell Lines Service)、ECACC(European Collection of Authenticated Cell Cultures)和KCLB(Korean Cell Line Bank)中的人源细胞STR数据^[6]。

采用评估值(evaluation value, EV)计算两种细胞间的匹配度,根据Tanabe算法^[7], $EV = (\text{匹配的STR位点个数} \times 2) / \text{所有STR位点的个数}$,匹配的STR位点个数指待测细胞与数据库中某一已知细胞完全匹配的STR位点数目,所有STR位点的个数指待测细胞和数据库细胞两者所检测的STR位点数目总和,包括没有匹配的位点。依据ASN-0002-2021标准,STR 8个位点的匹配度大于0.90时,认为待测细胞与数据库匹配细胞两者具有相关性,即衍生于共同的祖先细胞;匹配度在0.80至0.89之间,两者可能为同一来源,需要在8个位点的基础上增加D3S1358、D8S1179、D18S51、D21S11、FGA 5个位点帮助判断,13个位点匹配度大于0.80,认为两者具有相关性;匹配度在0.60至0.79之间,需要进一步验证两者的相关性;匹配度小于0.60,表明

两者不具有相关性。AM位点不用于计算匹配度, 仅用于辅助判断细胞系是否被错误辨识。

54例人肺癌细胞系交叉污染的总体情况

54例人肺癌细胞系中存在交叉污染的有14例, 错误率为25.93%(14/54)。51例常见人肺癌细胞系的错误率为27.45%(14/51)。3例中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所建立的人肺癌细胞系的错误率为0%(0/3)(图1)。

常见人肺癌细胞系交叉污染情况

通过STR信息比对发现, 51例常见人肺癌细胞系中14例发生交叉污染, 错误率为27.45%(14/51)。其中6例被NCI-H460污染(6/14), 2例被NCI-H838污染(2/14), 2例被NCI-H526污染(2/14), 各有1例分别被HCC15、NCI-H146、NCI-H1437污染(3/14), 样品NCI-H1373无法准确判断污染物(表1)。NCI-H1373在3个STR位点存在多个等位基因, 提示存在交叉污染, 即混入了其他人源细胞, 且NCI-H1373与

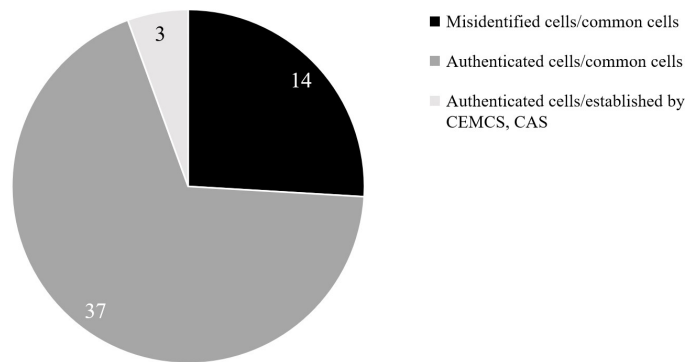


图1 54例人肺癌细胞系交叉污染概况

Fig.1 Cross-contamination of 54 human lung cancer cell lines

表1 错误认定的人肺癌细胞系的STR信息

Table 1 STR data of misidentified human lung cancer cell lines

细胞 Cells	STR数据 STR data									污染物(评估值) Contaminated cells (EV)
	AM	CSF1PO	D5S818	D7S820	D13S317	D16S539	TH01	TPOX	vWA	
NCI-H522-1*	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17	NCI-H460 (1.00)
NCI-H522-2*	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17	NCI-H460 (1.00)
NCI-H596	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17	NCI-H460 (1.00)
NCI-H520	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17	NCI-H460 (1.00)
NCI-H1734	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17	NCI-H460 (1.00)
NCI-H2291	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17	NCI-H460 (1.00)
NCI-H1781	X, X	10, 10	11, 11	9, 9	8, 8	9, 12	7, 7	8, 11	17, 17	NCI-H838 (1.00)
NCI-H1838	X, X	10, 10	11, 11	9, 9	8, 8	9, 12	7, 7	8, 11	17, 17	NCI-H838 (1.00)
NCI-H209-1*	X, X	11, 11	11, 11	9, 12	13, 13	9, 9	6, 8	8, 11	16, 17	NCI-H526 (1.00)
NCI-H209-2*	X, X	11, 11	11, 11	9, 12	13, 13	9, 9	8, 8	8, 11	16, 17	NCI-H526 (0.94)
HCC-78	X, Y	11, 11	13, 13	8, 11	11, 11	11, 13	7, 7	8, 11	16, 20	HCC15 (1.00)
NCI-H446	X, X	11, 12	12, 12	9, 10	11, 12	11, 11	6, 9.3	8, 11	14, 16	NCI-H146 (1.00)
NCI-H2122	X, X	11, 11	11, 14	8, 11	12, 12	11, 12	6, 6	9, 10	18, 18	NCI-H1437 (0.94)
NCI-H1373	X, Y	9, 10, 11, 12	9, 10, 12	9, 10, 12	6, 13	9, 10	8, 9.3	8, 10	16, 17	Unknow (<0.80)

EV: 评估值。*: 不同实验室来源的同一细胞系被认定为不同样品。

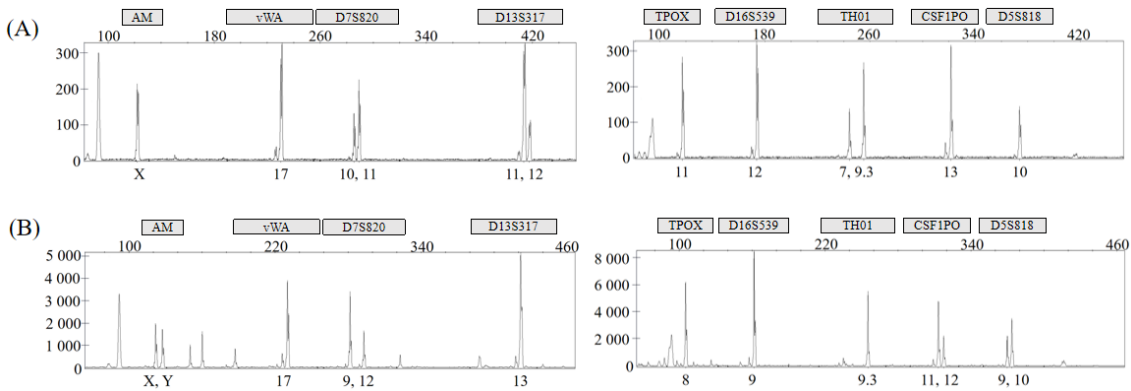
EV: evaluation value. *: the same cell lines collected from several different labs were recognized as different cell samples.

表2 人肺癌细胞系NCI-H526、NCI-H446的STR信息
Table 2 STR data of human lung cancer cell lines NCI-H526 and NCI-H446

细胞 Cells	STR数据 STR data								
	AM	CSF1PO	D5S818	D7S820	D13S317	D16S539	TH01	TPOX	vWA
NCI-H526	X, X	11, 11	11, 11	9, 12	13, 13	9, 9	6, 8	8, 11	16, 17
NCI-H446	X, X	13, 13	11, 11	10, 11	8, 8	12, 12	8, 9.3	9, 11	18, 19

表3 4组人肺癌细胞系的STR信息比对
Table 3 Comparison of STR data among four groups of human lung cancer cell lines

细胞 Cells	STR数据 STR data								
	AM	CSF1PO	D5S818	D7S820	D13S317	D16S539	TH01	TPOX	vWA
NCI-H1734 (P+1)	X, X	13, 13	10, 10	10, 11	11, 12	12, 12	7, 9.3	11, 11	17, 17
NCI-H1734 (P+6)	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17
NCI-H1734 (ATCC)	X, X	13, 13	10, 10	10, 11	11, 12	12, 12	7, 9.3	11, 11	17, 17
NCI-H460 (ATCC)	X, Y	11, 12	9, 10	9, 12	13, 13	9, 9	9.3, 9.3	8, 8	17, 17



A: NCI-H1734(P+1)的STR图谱; B: NCI-H1734(P+6)的STR图谱。

A: STR profiles of NCI-H1734 (P+1); B: STR profiles of NCI-H1734 (P+6).

图2 人肺腺癌细胞系NCI-H1734的STR图谱
Fig.2 STR profiles of human lung adenocarcinoma cell line NCI-H1734

数据库中其他细胞的STR信息匹配度均小于0.80,无法判断混入何种细胞。NCI-H526和NCI-H446的STR信息显示Y染色体缺失,意味着这两个来源于男性的细胞系被误判为来源于女性(表2),这种情况很常见,在一份涉及1 843个细胞系的STR数据中,有33.98%的男性细胞系被分型为女性,有1.15%的女性细胞系被分型为男性^[8]。这可能是由于肿瘤细胞的高度非整倍体现象和复杂的染色体重排列造成Y染色体片段转移到了其他染色体上,或者肿瘤细胞在长期的体外培养中丢失了整个Y染色体,导致AM位点未检测到Y染色体的存在^[9-10]。如果常染色体STR比对结果与原始样本相符,但性染色体结果与预期不符,则细胞系来源是正确的,未发生

交叉污染,但需要进一步确认样本的性别。对NCI-H1734(P+1)(该细胞系获得时未标注代数,我库获得后将其标注为P+1)进行了STR检测,其STR信息与ATCC细胞库中NCI-H1734完全匹配,匹配度为1.00,经过多次传代,发现NCI-H1734(P+6)细胞倍增时间明显缩短,增殖速度显著加快,故再次进行了STR检测,发现NCI-H1734(P+6)与ATCC细胞库中NCI-H460的STR信息完全匹配,匹配度为1.00。由于STR检测交叉污染的灵敏度阈值为5%^[8],P+1时未检测出污染物,随着细胞的多次传代,具有生长优势的污染物NCI-H460超越了原培养物,占据主导地位,P+6的STR信息提示NCI-H1734被NCI-H460污染(表3和图2)。

本单位建立的人肺癌细胞系交叉污染情况

根据STR信息比对本单位建立(体外传代20代以上)的3例人肺癌细胞系,未发现交叉污染现象。人小细胞肺癌细胞系H82R^[11]是NCI-H82经裸鼠皮下成瘤后在体外建系而成的,人肺腺癌细胞系STAC-P、STAC-H^[12]分别是PC-9、HCC827的耐药改造株,STR信息比对结果显示这3例自建细胞系均与原始细胞系完全匹配,匹配度为1.00。以上结果提示这3例细胞建系过程中未被其他人源细胞交叉污染(表4)。

细胞系的交叉污染从20世纪50年代首次被发现,直到今天仍然是一个严重的问题。我国的细胞系交叉污染现象也不容忽视,许多错误识别的细胞系至今仍被沿用^[13-14],国内多家权威细胞资源保藏库对从国内多个实验室收集的人源细胞样品进行检测,发现样品的交叉污染率为33.60%^[15]、25.00%^[16]和19.90%^[17],与我库评估的错误识别率25.93%相近。其中国内自建细胞系的错误率更高达54.10%~85.51%^[15-16,18],国际细胞系认证委员会(International Cell Line Authentication Committee, ICLAC)在其公开的注册表(<https://iclac.org/databases/cross-contaminations/>)中公布了545个存在交叉污染的细胞系目录^[19],在发生交叉污染的人源细胞系目录中26.61%都是被HeLa细胞污染,且被HeLa污染的细胞系仍在不断被发现和公布中^[20-22]。但有趣的是这54例人肺癌细胞系并未发现被HeLa交叉污染,这可能是由于部分实验室主要从事肺癌研究,并没有保藏HeLa细胞,以及对HeLa细胞交叉污染的防范意识较高,避免肺癌细胞与其同时操作及共用培养液。

细胞系发生交叉污染的主要原因有:原始细胞系来源不可靠,获得时已存在交叉污染;日常操作不规范,日常培养时存在多个细胞混用一种培养液的现象;同一时间同一空间同时操作多个细胞;日常传代、冻存时培养容器及冻存管上细胞信息标记错误或不清楚;细胞复苏时酒精擦拭导致冻存管

上信息模糊而被错误识别。对此我们建议:尽量从正规的细胞资源保藏机构购买合格的细胞,如果选择从其他实验室获得,必须进行STR身份鉴定,有研究显示大约35%的科研工作者会选择从其他实验室获取而不是从细胞保藏机构购买所需的实验细胞,这些获得的细胞株只有三分之一会被进行身份鉴定^[23],极大地提高了原本只局限在一个实验室的错误细胞系的使用频率和风险。此外还需严格规范日常培养中的操作:每个细胞系使用单独的培养液;避免同时操作多个细胞系;日常传代时培养瓶/皿标注清晰;冻存管标记时,采用打印冻存标签替代手写细胞信息,防止书写不清晰、酒精擦拭造成的细胞系错误识别。

肿瘤细胞建系周期长,且数据库中没有相应的细胞STR信息可供比对,建系者应保留原始组织块并进行STR鉴定获得该细胞系的原始STR信息,建系过程中及时冻存早期细胞样品并定期进行STR鉴定,比对原始STR信息以确保建系过程中没有发生交叉污染的情况。进行基因编辑获得的改造细胞株由于与原始细胞系STR信息完全一致,无法通过STR鉴定进行区分,在日常培养中尤其要避免改造细胞株与原始细胞系同时操作及混用培养液。除定期进行STR鉴定外还需要进行如抗性筛选、特定分子标记物检测等验证性实验,以保证后续实验的准确性和可重复性。作为复杂的永生化细胞系,肿瘤细胞系的非整倍体特性以及长时间受到不同培养条件影响,导致其遗传特征发生改变,出现克隆漂移现象,原本的异质性演变为多克隆性,进而造成不同代次的同一肿瘤细胞的STR图谱可能存在一定改变,若连续培养超过3个月或10代(两者中以时间较短者为准),建议重新复苏冻存管细胞进行替换^[24],如需继续培养,建议重新进行STR身份鉴定,以确保细胞系的正确使用。在日常培养过程中,如发现细胞形态及增殖速度明显改变,也应及时进行STR身份鉴定。

表4 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所建立的人肺癌细胞系的STR信息
Table 4 STR data of human lung cancer cell lines established in CEMCS, CAS

细胞 Cells	STR数据 STR data								
	AM	CSF1PO	D5S818	D7S820	D13S317	D16S539	TH01	TPOX	vWA
H82R	X, X	11, 11	12, 12	10, 13	8, 8	12, 12	9, 9.3	11, 11	14, 14
STAC-P	X, X	11, 11	11, 11	10, 11	8, 8	9, 9	7, 7	11, 11	17, 17
STAC-H	X, X	11, 11	12, 12	11, 12	9, 9	12, 12	6, 6	8, 8	18, 18

随着国内外各组织积极宣传细胞系交叉污染的严重后果,越来越多的中国科学家意识到细胞系鉴定的重要性,并积极投身于细胞系鉴定工作。我们呼吁所有科研人员重视细胞系交叉污染现象,从源头把控细胞系质量并规范细胞培养操作。

参考文献 (References)

- [1] AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION STANDARDS DEVELOPMENT ORGANIZATION WORKGROUP ASN-0002. Cell line misidentification: the beginning of the end [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(6): 441-8.
- [2] MASTERS J R, THOMSON J A, DALY-BURNS B, et al. Short tandem repeat profiling provides an international reference standard for human cell lines [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(14): 8012-7.
- [3] CAPES-DAVIS A, REID Y A, KLINE M C, et al. Match criteria for human cell line authentication: where do we draw the line [J]? *Int J Cancer*, 2013, 132(11): 2510-9.
- [4] SOUREN N Y, FUSENIG N E, HECK S, et al. Cell line authentication: a necessity for reproducible biomedical research [J]. *EMBO J*, 2022, 41(14): e111307.
- [5] FORBES S A, BEARE D, BOUTSELAKI H, et al. COSMIC: somatic cancer genetics at high-resolution [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 777-83.
- [6] ROBIN T, CAPES-DAVIS A, BAIROCH A. CLASTR: the Cellosaurus STR similarity search tool-a precious help for cell line authentication [J]. *Int J Cancer*, 2020, 146(5): 1299-306.
- [7] TANABE H, TAKADA Y, MINEGISHI D, et al. Cell line individualization by STR multiplex system in the cell bank found cross-contamination between ECV304 and EJ-1/T24 [J]. *Tiss Cult Res Commun*, 1999, 18: 329-38.
- [8] YU M, SELVARAJ S K, LIANG-CHU M M, et al. A resource for cell line authentication, annotation and quality control [J]. *Nature*, 2015, 520(7547): 307-11.
- [9] PARSON W, KIRCHEBNER R, MUHLMANN R, et al. Cancer cell line identification by short tandem repeat profiling: power and limitations [J]. *FASEB J*, 2005, 19(3): 434-6.
- [10] LIANG-CHU M M, YU M, HAVERTY P M, et al. Human bio-sample authentication using the high-throughput, cost-effective SNPtrace system [J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0116218.
- [11] GUO C, WAN R, HE Y, et al. Therapeutic targeting of the mevalonate-geranylgeranyl diphosphate pathway with statins overcomes chemotherapy resistance in small cell lung cancer [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(5): 614-28.
- [12] WANG Y, ZHANG J, REN S, et al. Branched-chain amino acid metabolic reprogramming orchestrates drug resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(2): 512-25.
- [13] OSTE D J, PATHMENDRA P, RICHARDSON R A K, et al. Misspellings or "miscellings"-non-verifiable and unknown cell lines in cancer research publications [J]. *Int J Cancer*, 2024, doi: 10.1002/ijc.34995.
- [14] SONG Q, ZHANG X, LIU W, et al. Bifidobacterium pseudolongum-generated acetate suppresses non-alcoholic fatty liver disease-associated hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2023, 79(6): 1352-65.
- [15] GU M, YANG M, HE J, et al. A silver lining in cell line authentication: STR analysis of 1373 cases in China from 2010 to 2019 [J]. *Int J Cancer*, 2021, 150(3): 502-8.
- [16] YE F, CHEN C, QIN J, et al. Genetic profiling reveals an alarming rate of cross-contamination among human cell lines used in China [J]. *FASEB J*, 2015, 29(10): 4268-72.
- [17] BIAN X, YANG Z, FENG H, et al. A combination of species identification and STR profiling identifies cross-contaminated cells from 482 human tumor cell lines [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9774.
- [18] 卞晓翠, 刘玉琴, 杨振丽, 等. 国内建立的人肿瘤细胞系的身份认证问题及对策[J]. 解剖学报(BIAN X C, LIU Y Q, YANG Z L, et al. Troubles and answers of identity authentication of human tumor cell lines established in China [J]. *Acta Anatomica Sinica*), 2019, 50(2): 201-10.
- [19] CAPES-DAVIS A, THEODOSOPOULOS G, ATKIN I, et al. Check your cultures! A list of cross-contaminated or misidentified cell lines [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(1): 1-8.
- [20] CAO F, SUN H, YANG Z L, et al. Multiple approaches revealed MGC80-3 as a somatic hybrid with HeLa cells rather than a gastric cancer cell line [J]. *Int J Cancer*, 2024, 154: 155-68.
- [21] YANG M M, HE J, XIA S X, et al. Investigation of the mixed origins of the MGC-803 cell line reveals that it is a hybrid cell line derived from HeLa [J]. *Hum Cell*, 2024, 37: 560-6.
- [22] SHAO T, CHEN Y L. Stop using the misidentified cell line LO2 as a human hepatocyte [J]. *J Hepatol*, 2024, 80(5): e200-1.
- [23] BUEHRING G C, EBY E A, EBY M J. Cell line cross-contamination: how aware are Mammalian cell culturists of the problem and how to monitor it [J]? *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2004, 40(7): 211-5.
- [24] UKCCCR. UKCCCR guidelines for the use of cell lines in cancer research [J]. *Br J Cancer*, 2000, 82(9): 1495-509.