

细胞检定报告

(2025 年第二版)

样本信息:	A549	检测机构:	中美冠科生物技术有限公司
客户名称:	南京科佰生物科技有限公司	检验员:	宋真真
检测日期:	2026-08-13	审核人:	钱武斌



目录

1.检测项目	1
2.检测依据	1
3.检测方法	1
4.检测结果总览	2
5.具体结果	3
5.1 人源细胞鉴别-SNP 法	3
5.2 人源细胞鉴别-STR 法	4
5.3 人源细胞污染（异质性）	6
5.4 人源细胞污染识别	7
5.5 小鼠细胞比例	8
5.6 小鼠细胞识别	9
5.7 支原体检测	12
5.8 微生物感染筛查	13
5.9 性别鉴定	16
5.10 人种基因混合比例检测	17
6.引用文献	18



1.检测项目

- 细胞鉴别—通过与参考细胞系 SNP 数据库匹配
- 常规 21 位点 STR 鉴定
- 人-人/鼠-鼠种内污染定量分析
- 人-鼠种间污染定量分析
- 样本遗传异质性定量分析
- 样本污染检测与污染物鉴定（如果污染物已存在于参考细胞系数据库）
- 小鼠同系模型鉴定（如适用）
- 内源、外源病毒感染检测
- 支原体污染检测
- 人类样本的性别鉴定
- 人类样本的遗传混合分析

2.检测依据

2025 年版《中华人民共和国药典》三部生物制品通则规定，对细胞基质的检定项目包含细胞鉴别、细菌真菌检查、分支杆菌检查、支原体检查、螺原体检查、内源外源病毒污染检查、成瘤性检查、致瘤性检查、稳定性检查等。同时高通量测序（NGS）技术已被纳入，可用于检测支原体、细胞鉴定以及病毒检测。

3.检测方法

通过二代测序 NGS-Panel 检测手段，对多个 SNP（单核苷酸多态性）和染色体片段进行深度测序，覆盖率达 3000 倍，使用 SNP 身份信息 and 频率信息通过统计学对样本进行分析，与参考细胞系数据库匹配比对，可识别低至 1% 的交叉污染以及鉴定出污染细胞系身份。在细胞身份鉴定的基础上，增加了常规 STR 位点，同时引入常见病毒污染检测、支原体污染检测、人类样本性别检测、人类样本遗传血统分析。



4.检测结果总览

检测项目	检测结果	备注
人源细胞鉴别 (SNP)	A549	与 A549 细胞匹配度最高,匹配度为 0.9902
人源细胞鉴别 (STR)	633 (CVCL_E066)、ACE2PLUSC3 (CVCL_D4Z5)、A549 (CVCL_0023) 等	与数据库中的 633 (CVCL_E066)、ACE2PLUSC3 (CVCL_D4Z5)、A549 (CVCL_0023) 等 细胞系 STR 匹配度大于 80%，确认为匹配
人源细胞污染(异质性)%	低	细胞群体遗传背景均一，无明显亚群混杂
人源细胞污染识别	-	没有检出其他人源细胞污染
小鼠细胞比例%	0	样本中未检测到小鼠 DNA 成分
小鼠细胞识别	-	未匹配到小鼠细胞模型
支原体检测	0	未检测到支原体污染
微生物感染筛查	阴性	筛查了 107 种病毒，均未发现感染
性别鉴定 (Gender)	Male	6 个 Y 染色体 SNP 读取深度之和大于 1000，判定为男性
人种基因混合比例检测(CEU:CHB:YRI)%	99.6:0.3:0.2	主要是 CEPH 样本库中具有北欧和西欧血统的犹他州居民



5.具体结果

5.1 人源细胞鉴别-SNP 法

参考细胞系	匹配位点数	不匹配位点数	总位点数	基因型相似度
A549	203	2	205	0.9902
HT3	117	90	207	0.5652
PL45	110	97	207	0.5314
SKRC20	110	99	209	0.5263
PANC1005	108	98	206	0.5243

经过与数据库参考细胞系比对，样本 A549 与 A549 细胞匹配度最高。

判断依据：通过 > 200 个 SNP 位点计算基因型相似度，相同样本相似度 > 90%，无亲缘关系的样本基因相似度 < 50%。若两个样本存在亲缘关系（例如源自同一亲本样本），其基因型相似度可从约 80%至接近 100%不等，具体取决于遗传差异程度。



5.2 人源细胞鉴别-STR 法

STR site	Test sample	633 (CVCL_E066)	ACE2PLUSC3 (CVCL_D4Z5)	A549 (CVCL_0023)
CSF1PO	10(63.7%), 12(29%)	10,12	10,12	10,12
D10S1248	13(64.1%), 16(28.4%)			13,16
D12S391	18(89.3%)			18
D13S317	11(93.7%)	11	11	11
D16S539	12(64.5%), 11(29.8%)	11,12	11,12	11,12
D18S51	14(41.8%), 17(39.5%), 16(13.9%)			14,17
D19S433	13(95.1%)			13
D1S1656	17(67.8%), 16(18.4%)			17,18.3
D21S11				29
D22S1045	15(84.5%)			15
D2S441	13(49.8%), 10(45.4%)			10,13
D3S1358	16(82.1%), 15(14.3%)			16
D5S818	11(92%)	11	11	11
D6S1043	11(58.9%), 13(37.5%)			
D7S820	8(67.3%), 11(28.2%)	8,11	8,11	8,11
D8S1179	13(61.3%), 14(33.3%)			13,14
FGA				23
TH01	8(59.5%),	8,9.3	8,9.3	8,9.3



STR site	Test sample	633 (CVCL_E066)	ACE2PLUSC3 (CVCL_D4Z5)	A549 (CVCL_0023)
	9.3(31.3%)			
TPOX	8(48.8%), 11(47%)	8,11	8,11	8,11
vWA	14(97.6%)	14	14	14
Similarity(%)	--	100	100	88.2

样本 A549 与数据库中的 633 (CVCL_E066)、ACE2PLUSC3 (CVCL_D4Z5)、A549 (CVCL_0023) 等细胞系 STR 匹配度大于 80%，确认为匹配。



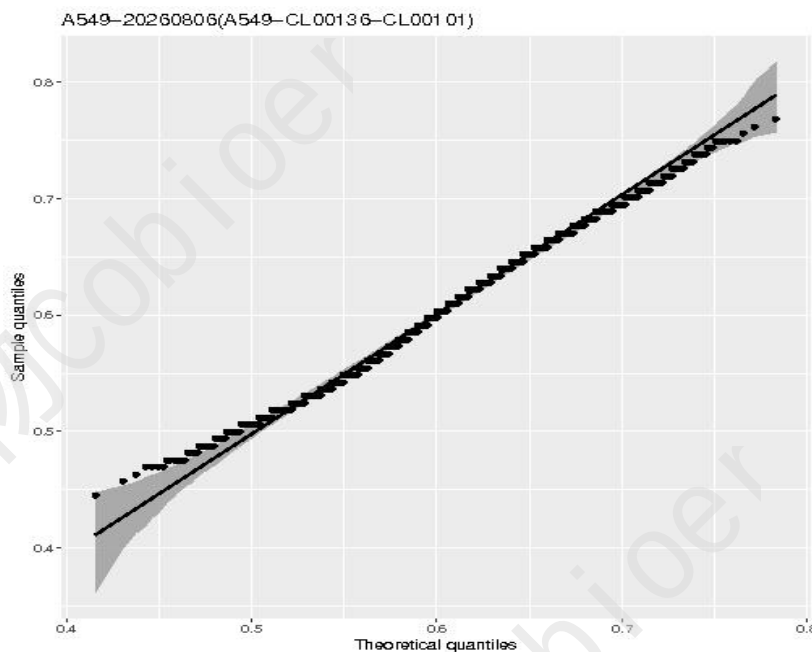
5.3 人源细胞污染（异质性）

经过分析，样本 A549 异质性比率较低。

判断依据：异质性比率是通过使用>200 个 SNP 对样本遗传异质性进行定量测量的指标，其定义见参考文献[1]表 1。该比率源于遗传异质性和污染因素。高异质性比率及双峰/三峰分布通常提示可能存在污染。



5.4 人源细胞污染识别

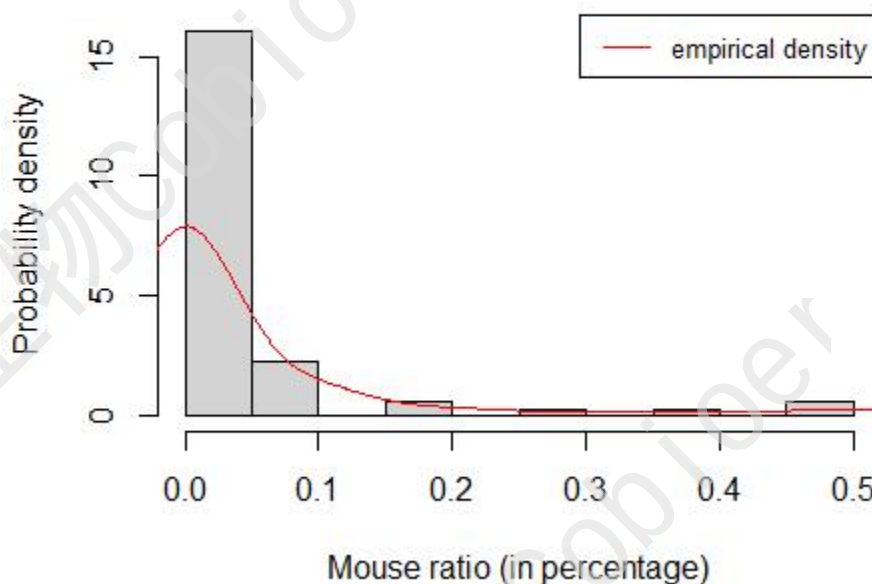


经过分析，样本 A549 中没有检出其他人源细胞污染。

判断依据：本分位数-分位数图中，每个数据点代表一个参考细胞系。理论分位数与样本分位数均通过 β 分布计算得出，该分布拟合自测试样本与所有参考样本间的基因型相似性。图中 99%置信区间以阴影标示。若某参考样本满足以下条件则判定为污染样本：(1) 具有最高基因型相似性；(2) 其基因型相似性在分位数-分位数图中超过 99%置信区间上限；(3) 在拟合的 β 分布中 P 值 $<1.0E-6$ 。



5.5 小鼠细胞比例



经过分析，样本 A549 中的小鼠细胞比例为 0%。

判断依据：小鼠比例是基于 71 个 100-300 bp 的人—小鼠同源片段估算得出，这些片段具有相同的侧翼序列，并通过相同的引物进行扩增。本检测方法可高精度估算人鼠混合样本中小鼠比例，并能可靠检测约 0.1% 的小鼠细胞比例。



5.6 小鼠细胞识别

小鼠细胞系	检出比率 (%)	小鼠细胞系	检出比率 (%)
2666	0	LLC	0
2PK3	0	MB49	0
3T3J2	0	MBT2	0
3T3Swissalbino	0	MC38-FDCC	0
4T1	0	MC38-Kerafast	0
A20	0	MC38-Pharm1	0
ATDC5	0	MC38-Pharm3	0
B16	0	MC38-NanjingGalaxy	0
B16BL6	0	MC38-Pharm2	0
B16F0	0	MFC	0
B16F1	0	MLTC1	0
B16F10	0	MPC11	0
BAF3	0	MS1	0
BALB3T3	0	MTCM	0
BCL1clone5B1b	0	N18Hamprecht	0
C127I	0	N1E115	0
C1498	0	NFS60	0
C2C12	0	NIH3T3	0
CMT93	0	Neuro2a	0
CT26WT	0	P388	0
CloneM3	0	P388D1	0
Colon26	0	P3NS11Ag41NS1	0
D2N	0	P3X63Ag8	0
EG7Ova	0	P3X63Ag8653	0



小鼠细胞系	检出比率 (%)	小鼠细胞系	检出比率 (%)
EL4	0	P3X63Ag8U1	0
EMT6	0	P815	0
EO771	0	Pan02	0
EOMA	0	RAG	0
EPH41424	0	RAW2647	0
FM3A	0	RM1-ATCC	0
FO	0	RM1-SIBS	0
GL261	0	Renca	0
H22	0	S491	0
Hep551C	0	S49Thy1a	0
Hepa16	0	SP20	0
Hepa1c1c7	0	STO	0
J558	0	Sarcoma180	0
J558L	0	TC1	0
J774A1	0	TRAMPC2WTE	0
JC	0	U14	0
K7M2WT	0	UGSM2	0
KLN205	0	WEHI164	0
L1210	0	WEHI3	0
L5178RLYR	0	WEHI3BD	0
L5178SLYS	0	bEnd3	0
L5178YTKclone372C	0	mHypoEN6	0
LA4	0		

经过分析，样本 A549 与我们数据库中的小鼠细胞模型均不匹配。



判断依据：当检测到 $\geq 80\%$ 的特征性 SNP 时，将分配匹配的小鼠细胞模型。



5.7 支原体检测

支原体测序深度中值	人/鼠测序深度中值	比值
0	308	0

经过分析，样本 A549 为支原体阴性。

检测方法：采用六对通用引物检测支原体污染。支原体亚型用了各支原体的特征引物检测。



5.8 微生物感染筛查

微生物	高覆盖 度碱基 数目	微生物	高覆盖 度碱基 数目
AAV	0	Mammalian_orthoreovirus_2	0
ADV	0	Merkel_cell_polyomavirus	0
ADV-16	0	Minute_virus_of_mice	0
ADV-21	0	Mouse_parvovirus_1	0
ADV-55	0	Mouse_parvovirus_2	0
ADV-68	0	Mouse_parvovirus_3	0
ADV-7	0	Mouse_parvovirus_4	0
ADV-8	0	Mouse_parvovirus_5a	0
Adeno-associated_virus_9	0	Murid_betaherpesvirus_1	0
B19V	0	Murid_betaherpesvirus_2	0
BKV	0	Murid_herpesvirus_3	0
Boone_Cardiovirus	0	Murine_adenovirus_1	0
Bovine_adenovirus_10	0	Murine_adenovirus_2	0
Bovine_adenovirus_2	0	Murine_chapparovirus	0
Bovine_adenovirus_3	0	Murine_coronavirus	0
Bovine_adenovirus_4	0	Murine_hepatitis_virus	0
Bovine_adenovirus_6	0	Murine_kobuvirus_1	0
Bovine_adenovirus_7	0	Murine_norovirus	0
Bovine_parvovirus_1	0	Murine_orthopneumovirus	0
Bovine_parvovirus_2	0	Murine_poliovirus	0
Bovine_parvovirus_3	0	Murine_polyomavirus	0
Bovine_respirovirus_3	0	Murine_respirovirus	0
Bovine_viral_diarrhea_virus_1	0	Murine_rotavirus	0



微生物	高覆盖 度碱基 数目	微生物	高覆盖 度碱基 数目
Bovine_viral_diarrhea_virus_2	0	Murine_sapovirus	0
Bovine_viral_diarrhea_virus_3	0	Porcine_circovirus_2	0
Burkholderia_gladioli	0	Porcine_circovirus_3	0
CMV	0	Porcine_parvovirus	0
Corynebacterium_bovis	0	Porcine_parvovirus_2	0
EBV	0	Porcine_parvovirus_3	0
Ectromelia_virus	0	Porcine_parvovirus_4	0
HAV	0	Porcine_parvovirus_5	0
HBV	0	Porcine_parvovirus_6	0
HCV	0	Porcine_parvovirus_7	0
HFV1	0	Pseudomonas_aeruginosa	0
HHV-5	0	Rat_parvovirus_1	0
HHV-6A	0	Rat_parvovirus_2	0
HHV-6B	0	Rat_parvovirus_NTU1	0
HHV-7	0	Rotavirus_B	0
HHV-8	0	SV40	0
HIV-1	0	Saccharopolyspora_erythraea	0
HIV-2	0	Seoul_orthohantavirus	0
HPV16	0	SinNombre_orthohantavirus	0
HPV18	0	Theilers-like_virus_of_rats	0
HSV1	0	Torque_teno_sus_virus	0
HSV2	0	Torque_teno_sus_virus_1a	0
HTLV-1	0	Torque_teno_sus_virus_1b	0
HTLV-2	0	Torque_teno_sus_virus_k2a	0



微生物	高覆盖 度碱基 数目	微生物	高覆盖 度碱基 数目
HTLV-3	0	Torque_teno_sus_virus_k2b	0
HTLV-4	0	Treponema_pallidum	0
Hantaan_orthohantavirus	0	VSVG	0
Human_foamy_virus	0	Varicella-zoster_virus	0
JCV	0	Vesivirus	0
Lactate_dehydrogenase- elevating_virus	0	adeno-associated_virus_2	0
Mammalian_orthoreovirus_1	0		

经过分析，样本 A549 对如上 107 个微生物均呈阴性。

判断依据：采用多对引物检测每种微生物。若某病毒的高覆盖碱基（读取深度>500）数超过 100，判定该样本对该病毒呈阳性。详见参考文献[1]。



5.9 性别鉴定

Y 染色体特异性位点	测序深度
hg19_chrY_14832620	367
hg19_chrY_15467824	93
hg19_chrY_15591537	76
hg19_chrY_2822023	1,348
hg19_chrY_7235632	371
hg19_chrY_21765821	846

经过分析，样本 A549 为男性。

判断依据：若 6 个 Y 染色体 SNP 的读取深度总和 > 1000，则判定样本为男性；若总和 < 300，则预测性别为女性；若读取深度总和小于 1000 且大于 300，则不进行性别判定。由于 Y 染色体在癌症基因组中常发生丢失，建议采用显微镜观察法对性别预测结果进行确认。



5.10 人种基因混合比例检测

经过分析，样本 A549 主要是 CEPH 样本库中具有北欧和西欧血统的犹他州居民。

判断依据：基于 143 个 SNP 的基因分型数据，该样本的遗传混合比例为 0.3% CHB、99.6% CEU 和 0.2% YRI，其中 CHB 代表汉族，CEU 代表 CEPH 样本库中具有北欧和西欧血统的犹他州居民，YRI 代表尼日利亚约鲁巴人。



6.引用文献

1. Chen,X., Qian,W., Song,Z., Li,Q. and Guo,S. (2020) Authentication, characterization and contamination detection of cell lines, xenografts and organoids by barcode deep NGS sequencing. NAR Genomics and Bioinformatics, 2, 3.

