第 1 卷第 2 期
2006 年 6 月

生 态 毒 理 学 报
Asian Journal of Ecotoxicology

Vol. 1, No. 2
Jun. 2006

甲醛所致DNA-蛋白质交联修复的研究

彭光银，赵玮，鲁志松，刘英帅，杨旭*

华中师范大学生命科学学院 环境科学实验室，武汉 430079

摘要：为了探讨机体对甲醛所致 DNA-蛋白质交联的修复能力，采用 KCl-SDS 沉淀法检测甲醛染毒后不同时间段 HepG2 细胞和小鼠肝细胞中 DNA-蛋白质交联的修复情况. 实验结果表明，采用 75μmol·L^{-1} 甲醛染毒 HepG2 细胞，在染毒 18h 和 24h 后，细胞内的 DPC 水平较染毒结束时发生了显著下降（$p < 0.01$），且与空白对照组相比无显著差异；由 3.0mg·m^{-3} 气态甲醛产生的 DNA-蛋白质交联在 12h 内可以得到明显修复（$p < 0.01$），并在 24h 内恢复到空白对照水平；经 20mg·kg^{-1} 液态甲醛染毒后，18h 时 DPC 含量与空白组相比有显著性升高（$p < 0.01$），在 24h 时 DPC 含量与 18h 时相比有显著的下降（$p < 0.05$），且与空白组相比无显著差异. 以上结果显示：甲醛所致肝细胞 DNA-蛋白质交联能够得到修复，且 24h 内能够修复完全.

关键词：甲醛；体内实验；体外实验；DNA-蛋白质交联；修复作用

文章编号：1673-5897(2006)2-144-06　　**中图分类号**：X18　　**文献标识码**：A

Study on the Repair of DNA-Protein Crosslinks Induced by Formaldehyde

PENG Guang-yin, ZHAO Wei, LU Zhi-song, LIU Ying-shuai, YANG Xu*

Laboratory of Environmental Science, College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079

Received 21 February 2006　　received in revised form 24 May 2006　　accepted 25 May 2006

Abstract: To explore the repair process of DNA-protein crosslinks (DPC) induced by formaldehyde, this study used KCl-SDS assay to access the content of DPC in HepG2 cell line and the livers of purebred Kunming mice after exposure to formaldehyde at times of 0h, 6h, 12h, 18h and 24h. The results showed that DPC, which was induced significantly by liquid formaldehyde at 75μmol·L^{-1}, could be removed significantly after 18 and 24 hours ($p < 0.01$), but not the case after 6 and 12 hours. DPC induced by gaseous formaldehyde at 3.0mg·m^{-3} could be mostly removed within 12 hours ($p < 0.01$) and could be removed completely at 24 hours. DPC which was induced significantly after exposure to liquid formaldehyde at 20mg·kg^{-1} ($p < 0.01$) could be removed within 24 hours, and the repair process of DPC mostly happened at the period of 18 to 24 hours. In combination, these results suggested that the DPC induced by formaldehyde could be removed completely in 24 hours.

Keywords: formaldehyde; in vivo; in vitro; DNA-protein crosslinks; repair

收稿日期：2006-02-21　　**修回日期**：2006-05-24　　**录用日期**：2006-05-25

基金项目：国家自然基金面上项目（No. 30570799）

作者简介：彭光银（1975—），男，硕士研究生，E-mail: dickpgy@yeah.net；*通讯作者（Corresponding author），E-mail: yangxu@mail.ccnu.edu.cn

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

甲醛(formaldehyde, FA)是一种常见的装修型化学性室内空气污染物，也是一种内源性有机化合物.环境气态甲醛为无色、强嗅、具有强氧化性的刺激性气体,其主要污染特征是:来源广、生物毒性大、污染水平高、污染时间长等.甲醛具有遗传毒性和致突变性，可以导致 DNA 链的断裂(DNA strand breakage, DSB)、DNA-DNA 的交联(DNA-DNA crosslinks, DDC)以及 DNA-蛋白质的交联(DNA-protein crosslinks, DPC)(图 1)(Bunde et al., 2000; Conaway et al., 1996; Kuykendall et al., 1995)，其中 DPC 在致癌性和致突变性中具有至关重要的作用. 2004 年世界卫生组织下属机构——国际癌症研究中心(IARC)领导的工作小组评估了甲醛致癌效应的相关研究报告后，将甲醛确定为 1A 类物质(人类致癌物)(IARC, 2004). 甲醛所致的 DPC 对人体健康的危害极为严重,国外对此虽然有所研究，但是对其在机体中的修复机制却了解很少，且研究多局限于体外实验或者高浓度的液态甲醛染毒，而对于低浓度的气态甲醛和液态甲醛染毒的体内实验却涉及很少. 本研究采用 KCl-SDS 沉淀法从体内和体外两个方面来检测低浓度的气态甲醛和液态甲醛染毒所致 DPC 的修复作用，以期更全面更系统地了解甲醛的遗传毒性和致癌性，为制定安全的环境和职业浓度标准提供更科学的依据.

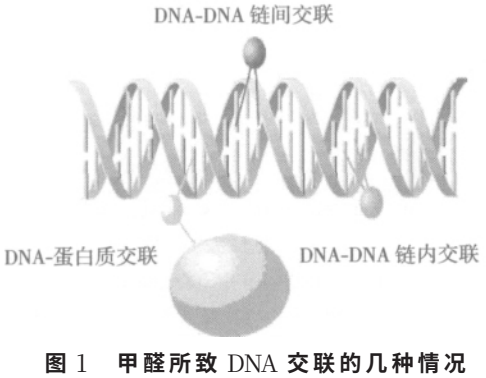

图 1　甲醛所致 DNA 交联的几种情况

Fig.1　DNA crosslinks induced by FA

1　材料与方法(Materials and methods)

1.1　仪器与主要试剂

试剂:10%的福尔马林溶液(Sigma 公司),人肝癌细胞系 HepG2(新加坡南洋理工大学生命科学学院),RPMI 1640 培养基(Gibco),新生小牛血清(Gibco),十二烷基硫酸钠(Merk 公司),蛋白酶 K(Merk 公司),Hoechst33258 荧光染料(Sigma 公司)，小牛胸腺 DNA(Sigma 公司)，其他试剂如 KCl、NaH_2PO_4、Na_2HPO_4、EDTA 均为国产分析纯. 仪器：4160-2 型甲醛测定仪(Interscan 公司),CO_2 培养箱(日本岛津),超净工作台(苏州净化科学仪器厂)，三用电热恒温水箱(北京市长源实验仪器厂),涡旋器,低温冷冻离心机(Eppendof-5415R),F-4500 型荧光分光光度计(日本日立),WH-2 型小型智能环境气候舱(武汉宇信科技开发有限公司). 用于染毒的甲醛气体采用仿真方案制备,即采用 Sigma 公司生产的 10%福尔马林溶液原液,配制成不同浓度甲醛溶液，置于 WH-2 小型智能型环境气候舱通气湿度发生装置中，通过环境气候舱设定的恒定湿度参数，使之能稳定连续地输出实验所需浓度的气态甲醛. 舱输出甲醛染毒气体的环境参数为:舱温度(23 ±0.5)℃;相对湿度(45 ±0.5)%;气流量为(1 ±0.01) $L\cdot min^{-1}$. 气体的甲醛浓度由 4160-2 型甲醛测定仪测定,灵敏度为 0.012$mg\cdot m^{-3}$，准确度为±0.024$mg\cdot m^{-3}$，数字显示读数.

1.2　实验方法和材料

1.2.1　液态甲醛致 HepG2 细胞 DPC 修复试验

将 HepG2 细胞悬液分为染毒组和对照组(细胞数 1.5×10^6 个$\cdot mL^{-1}$),然后向染毒组中加入甲醛使其终浓度为 75μM(根据甲醛致 DPC 效应实验和细胞毒性实验结果选定)，并将细胞放入 5%的 CO_2 细胞培养箱中 37℃孵育 1h. 取出染好毒的细胞离心,去掉甲醛并用 PBS 清洗 2 次,再用新鲜的培养基重悬细胞并分成 5 份,放入培养箱 37℃孵育 0、6、12、18、24h,然后分别进行 DPC 检测,观察 DPC 的修复情况.

1.2.2　气态甲醛染毒致 DPC 修复试验

实验所用材料为湖北省预防医学院实验动物中心所提供的 SPF 级昆明纯系雄性小鼠,体重 20g 左右. 实验采用动态吸入式染毒，将 36 只小鼠随机分为 6 组,1 个对照组和 5 个甲醛染毒组,每组 6 只，染毒组全部采用浓度为 3.0$mg\cdot m^{-3}$(23℃)(根据我国职业卫生标准,目前甲醛在工作场所的最高容许浓度为 0.5$mg\cdot m^{-3}$，而在 2002 年之前为 3$mg\cdot m^{-3}$)的甲醛连续 72h 染毒,对照组也在同样的染毒缸中吸入经过滤的新鲜空气(甲醛浓度<

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

0.01mg·m^{-3})，染毒期间动物定时进食和饮水，每天2次. 小鼠染毒完毕后0、6、12、18、24h脱颈处死. 处死后迅速取出肝脏，用PBS(pH=7.5)缓冲液洗去表面血迹，再用眼科剪剪成糜状(约1mm^{3}的组织块)，4层纱布过滤；将细胞滤液在1500r·min^{-1}下离心5min，去掉上清液，用0.5mL的PBS(pH=7.5)缓冲液重悬浮细胞并调整细胞密度，苔盼蓝排斥法检测细胞活力，细胞存活率大于95%，细胞密度为10^5~10^6个·mL^{-1}，得到的肝细胞悬液待用.

1.2.3 液态甲醛致DPC修复试验

将30只昆明纯系雄性小鼠随机分为5组，1个空白对照组和4个甲醛染毒组，每组6只，采用腹腔注射的方法进行染毒，染毒组注射浓度为20.0mg·kg^{-1}(根据液态甲醛致小鼠DPC效应实验选定)的甲醛，对照组注射生理盐水，每天注射1次，每次1mL，连续5天注射，染毒组分别在最后1次注射完后6、12、18、24h脱颈处死.染毒期间动物自由进食和饮水. 肝细胞悬液制备同1.2.1.

1.3 DPC的检测

DPC采用KCl-SDS沉淀法(Kuykendall et al., 1995; Zhitkovich et al., 1992; Chakrabarti et al., 1999; 刘英帅等, 2004)检测，SDS可以和DPC以及其他的蛋白结合，而不和自由的DNA结合，在向样品中加入KCl溶液时可使DPC和蛋白质沉淀下来，而自由的DNA留在上清液中. 将上清液转移后，再向沉淀中加入蛋白酶K除去蛋白质，使DPC中的DNA游离出来，并用荧光法测定此DNA的含量A以及原液中DNA的含量B，计算DPC系数η，以此值表示DNA和蛋白质的交联程度：

$$\eta(\%) = A/(A+B) \times 100\% \quad (1)$$

具体步骤如下：

细胞的裂解：在制备好的肝细胞悬液中分别加入0.5mL 2%的SDS溶液并轻微振荡，然后在65℃水浴中加热10min，待用.

游离DNA的分离：从水浴中取出裂解好的细胞，加入100μL溶于20mmol·L^{-1} Tris-HCl的1.0mol·L^{-1} KCl (pH=7.5)，将混合液6次穿过1mL的聚丙烯枪头，从而使DNA长度统一. 然后待混合液在冰上冷冻5min后，形成SDS-K$^+$沉淀，再在10000r·min^{-1}、4℃下离心5min收集沉淀，将上清液转入另一离心管(5mL)中. 沉淀中加入1mL的清洗缓冲液(0.1mol·L^{-1} KCl, 0.1mmol·L^{-1} EDTA, 20mmol·L^{-1} Tris-HCl, pH=7.5)以重悬浮，65℃水浴加热10min，冰上骤冷5min，重复离心和清洗步骤3次，每次均将上清液转入5mL离心管中.

DPC中结合DNA的分离：最终的沉淀重悬浮于0.5mL的清洗缓冲液中，然后加入0.5mL的蛋白酶K(0.4mg·mL^{-1}，溶于清洗缓冲液中配制)，50℃水浴消化3h，再在冰上骤冷5min，然后12000r·min^{-1}、4℃下离心10min，收集上清液即为DPC中的DNA.

DPC的定量：先制作DNA浓度的标准曲线：用清洗缓冲液配制终浓度分别为0、100、300、500、750、1000、1500、2000、3000、5000ng·mL^{-1}的小牛胸腺DNA标准液，紧接着加入1mL新鲜配制的400ng·mL^{-1}荧光染料Hoechst33258，使荧光染料的终浓度为200ng·mL^{-1}，置于暗处30min，用F-4500型荧光分光光度仪在350nm激发光和450nm发射光下测得各浓度的荧光值，制备标准曲线，如图2所示，回归方程为：$y = 2.4423 + 0.0028x$, $r^2 = 0.9974$. 将染色后的样品用F-4500型荧光分光光度计测定其荧光值，根据标准曲线来定量交联DNA和自由DNA，再计算DPC系数η.

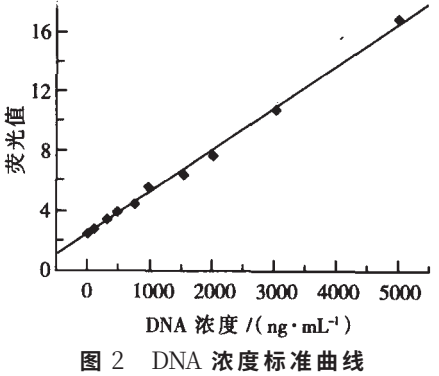

图2 DNA浓度标准曲线

Fig.2 The standard curve of DNA concentration

1.4 实验数据的统计学分析

实验测得的各项数据用Origin6.1统计软件分析并进行t检验和绘图.

2 结果(Results)

2.1 液态甲醛所致人肝癌细胞系HepG2 DPC的修复实验

采用75μmol·L^{-1}甲醛染毒HepG2细胞1h后，观察该细胞在24h内DPC的修复情况如图3所

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

示，0h 时细胞内 DPC 水平和空白组相比显著升高（$p < 0.01$），在对染毒细胞继续培养 6h 和 12h 后，细胞内的 DPC 水平较染毒结束时没有发生显著变化，当继续培养至 18h 和 24h 后，细胞内的 DPC 水平较染毒结束时发生了显著下降（$p < 0.01$），且与空白对照组相比无显著差异．由此推断细胞在染毒 18h 和 24h 后 DPC 基本修复至正常水平，该细胞对 DPC 的修复可能主要发生在 12~18h 之间．

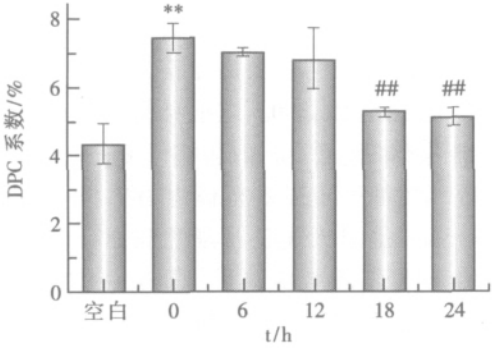

图 3　液态甲醛致 HepG2 细胞系 DPC 的修复
（**：$p < 0.01$，与空白组比较；##：$p < 0.01$，与 0h 组比较）

Fig.3　Removing of DPC induced by gaseous formaldehyde in HepG2 cell lines
（**：$p<0.01$，compared with control group；##：$p<0.01$，compared with 0h group）

2.2　气态甲醛所致 DPC 的修复实验

采用 KCl-SDS 沉淀法检测 3.0mg·m^{-3} 的气态甲醛诱导生成 DPC 的修复实验结果见图 4．实验结果显示，经过 3.0mg·m^{-3} 的气态甲醛染毒后，0h 组肝细胞内 DPC 含量显著增加（$p < 0.01$），经过 6h 修复后，与 0h 修复组相比有显著性差异（$p < 0.01$），但与空白组相比，此时 DPC 还没有修复完全；经过 12h、18h 和 24h 修复后，DPC 含量与 0h 相比有极显著的下降（$p < 0.01$），24h 时 DPC 含量与空白组相比无显著差异，但 12h 和 18h 时 DPC 含量比空白组更低，且有显著差异．由此可知，气态甲醛诱导生成的 DPC 在体内修复较快，在 12h 内基本上可以修复完全，24h 内可以恢复至机体正常水平．

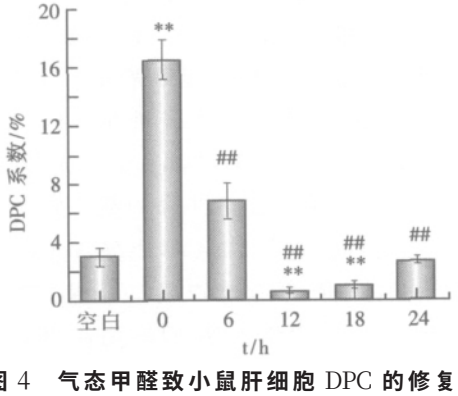

图 4　气态甲醛致小鼠肝细胞 DPC 的修复
（**：$p < 0.01$，与空白组比较；##：$p < 0.01$，与 0h 组比较）

Fig.4　Removing of DPC induced by gaseous formaldehyde in mice liver cells
（**：$p < 0.01$，compared with control group；##：$p < 0.01$，compared with 0h group）

2.3　液态甲醛所致 DPC 的修复实验

液态甲醛诱导生成 DPC 的修复实验结果见图 5．实验结果显示，经过 20mg·kg^{-1} 的液态甲醛染毒后，6h 和 12h 时小鼠肝细胞内 DPC 含量与空白组相比没有显著性升高，而 18h 时与空白组相比有显著性升高（$p < 0.01$），在 24h 时 DPC 含量与 18h 相比有极显著的下降（$p < 0.05$），且与空白组相比无显著差异．由此可知，液态甲醛诱导生成的 DPC 在 24h 内可以恢复至机体正常水平，且修复主要发生在 18~24h 之间．

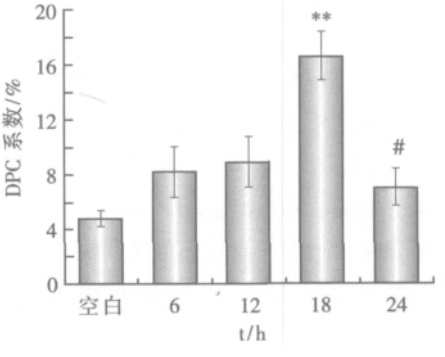

图 5　20mg·kg^{-1} 液态甲醛致小鼠肝细胞 DPC 的修复
（**：$p < 0.01$，与空白组比较；#：$p < 0.05$，与 18 h 组比较）

Fig.5　Removing of DPC induced by 20mg·kg^{-1} liquid formaldehyde in mice liver cells
（**：$p < 0.01$，compared with control group；#：$p < 0.05$，compared with 18h group）

3　讨论（Discussion）

在正常细胞中存在着一定量的 DPC，这是 DNA 与核蛋白的正常联系或其代谢的结果，对维持细胞的正常生理活动具有重要作用，当有外来物理、化学因素作用时，则可诱导出过量的 DPC．DPC 与其他 DNA 损伤相比，较难修复（Merk et al.，2000），且 DPC 仅可发生在单链 DNA 上，表明这种交联只能发生在 DNA 复制和转录期间，因此 DPC 的形成，必将对 DNA 的构象和功能（复制与

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

转录)产生严重的影响(Voitkun et al.,1999),并在其复制过程中容易造成某些重要基因(如抑癌基因)的丢失,导致肿瘤或某些严重疾病的发生.可见DPC过度增加是一种病理现象,是DNA分子的一种严重的遗传损伤.

早在上世纪70年代,即有学者发现甲醛可导致DPC的产生.其后,由于人们逐渐认识到DPC在甲醛遗传毒性中的重要地位及其导致的严重后果,甲醛与DPC关系的研究报导也逐年增加.大量的体内和体外实验表明,甲醛引起的DPC在多种类型的细胞中广泛存在(Conaway et al.,1996; Zhitkovich et al., 1992; Merk et al., 1998; 1999; Casanova et al., 1989; 1991; 1994; Shaham et al., 1996; 1997; 2003).Casanova等进行了相关的体内实验,证实急性甲醛吸入可诱导大鼠和恒河猴鼻粘膜DPC的形成(Casanova et al., 1989; 1991; 1994).同时,他们认为甲醛是具有高度水溶性和化学活性的物质,吸入过程中大部分甲醛会在上呼吸道接触部位沉积和吸收,因此甲醛所导致的DPC只可能在接触部位形成.而Shaham等在体内实验中发现,暴露于甲醛的工人外周血淋巴细胞和白细胞中可以检测到高出非暴露工人水平的DPC,而且暴露年限与DPC水平之间存在线性关系,因此他们认为DPC可作为甲醛职业暴露的生物标志物(Shaham et al.,1996; 1997; 2003).目前,甲醛导致DPC的效应及其危害已被广泛认同,但是对于甲醛是否可在体内导致非靶细胞DPC形成上仍存在争议.

甲醛是醛类化合物中最简单的小分子,其毒性效应的一个重要方面是源于它的羰基亲电性和较小的空间位阻,使其易于与核酸和蛋白质发生交联.在体内或体外甲醛先与蛋白质或核酸上自由的氨基反应生成不稳定的羟甲基加合物,然后再进一步与核酸或蛋白质反应形成稳定的交联物.甲醛主要引起DNA和组蛋白的交联,该过程是甲醛先快速和组蛋白反应,然后再和DNA环外的氨基结合形成DPC,主要涉及到组蛋白赖氨酸的ε氨基和A/G碱基的环外氨基,其主要结构为:histone-NH-CH_2-NH-DNA(Renee et al., 2000; Quievryn et al., 2000).

甲醛所致的DPC对人体健康的危害极为严重,一般认为甲醛所致的DPC在机体内是较难修复的.本研究从体外和体内2个方面研究了甲醛所致DPC的修复情况.研究结果显示,75 μmol·L^{-1}的液态甲醛致HepG2细胞中所产生的DPC在18~24h能够基本修复至正常水平;3.0mg·m^{-3}的气态甲醛在小鼠肝中诱导生成的DPC修复较快,在12h内基本上可以修复完全,24h内可以恢复至机体正常水平,其中12h和18h的DPC水平比空白还要低,推测其原因可能是3.0mg·m^{-3}的气态甲醛浓度太高,抑制了小鼠体内DPC合成酶的活性,使12h和18h的DPC合成量低于空白水平;20mg·kg^{-1}的液态甲醛在小鼠肝中诱导生成的DPC在24h内可以恢复至机体正常水平,且修复主要发生在18~24h之间.这些结果均说明甲醛所致DPC能够修复,且24h内能够修复完全.

国外相关研究也发现机体内DPC能够得到有效修复.Speit等对人类正常细胞和2种修复缺陷型细胞内DPC清除效应进行了研究,结果发现3种细胞在24h内都可以将DPC完全清除掉(Speit et al., 2000).Quievryn和Zhitkovich采用人肾Ad293、肺A549和HF/SV成纤维细胞系对DPC修复能力进行了研究,发现DPC在这3种细胞中的半衰期平均为12.5h(范围是11.6~13.0h)(Quievryn et al., 2000).Heck和Casanova在其综述中指出,DPC可以在24h内被修复且不会在细胞内积累(Heck et al., 2004).但也有个别研究显示,甲醛所致的DPC可在体内积累,并随暴露年限的增加而增加(Shaham et al., 1996; 1997).

那么甲醛所致的DPC是怎么修复的呢?Quievryn和Zhitkovich通过对比体内和体外DPC的降解速度发现细胞内存在有活性的修复机制,且该机制与蛋白水解酶复合体有关(Heck et al., 2004).然而,蛋白水解酶复合体仅能水解与DNA结合的蛋白,并不能切除亚甲基及由亚甲基桥联的赖氨酸残基.酪氨酸特异性的DPC修复酶-TDP1(Tyrosyl-dna phosphodiesterase 1)的发现为我们提供了一种机制.在拓扑异构酶Ⅰ参与生物体正常生理功能时,它与DNA形成酪氨酸残基-DNA交联,最后残余物可被磷酸二脂酶TDP1清除(Takashima et al., 2002).我们推测在甲醛所致的DPC修复中,存在能切除与DNA相连的赖氨酸残基或短肽的DPC修复酶-赖氨酸DPC修复酶.

通讯作者简介:杨旭(1954—),男,华中师范大学生命科学学院教授,副院长.从事室内空气污染与健康关系

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

研究 22 年. E-mail: yangxu@mail.ccnu.edu.cn; Tel: 027-67867774.

References

Bunde R L, Jarvi E J, Rosentreter J J. 2000. A piezoelectric method for monitoring formaldehyde induced crosslink formation between poly-lysine and poly-deoxyguanosine [J]. Talanta, 51: 159-171

Casanova M, Deyo D F, Heck H D.1989. Covalent binding of inhaled formaldehyde to DNA in the nasal mucosa of Fischer 344 rats: analysis of formaldehyde and DNA by high-performance liquid chromatography and provisional pharmacokinetic interpretation [J]. Fundam Appl Toxicol, 12(3): 397-417

Casanova M, Morgan K T, Gross E A, et al. 1994. DNA-protein cross-links and cell replication at specific sites in the nose of F344 rats exposed subchronically to formaldehyde [J]. Fundam Appl Toxicol, 23: 525-536

Casanova M, Morgan K T, Steinhagen, et al. 1991. Covalent binding of inhaled formaldehyde to DNA in the respiratory tract of Rhesus monkey: pharmacokinetics, rat-to-monkey interspecies scaling, and extrapolation to man [J]. Fundam Appl Toxicol, 17: 403-428

Chakrabarti S K, Bai C J, Subramanian K S. 1999. DNA-protein crosslinks induced by nickel compounds inisolated rat renal cortical cells and its antagonism by specific amino acids and magnesium ion [J]. Toxicology and applied Pharmacology, 154: 245-255

Conaway C C, Whysner J, Verna L K. 1996. Formaldehyde mechanistic data and risk assessment: endogenous protection from DNA adduct formation [J]. Pharmacol Ther, 71: 29-55

Heck H, Casanova M. 2004. The implausibility of leukemia induction by formaldehyde: a critical review of the biological evidence on the distant-site toxicity [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, (40): 92-106

International Agency for Research on Cancer. 2004. IARC classifies formaldehyde as carcinogenic to humans [OL]. 2004-06-15, http://www.iarc.fr/ENG/Press_Releases/archives/pr153a.html

Kuykendall J R, Trela B A, Bogdanffy M S. 1995. DNA-protein crosslink formation in rat nasal epithelial cells by hexamethyl-phosphoramide and its correlation with formaldehyde production [J]. Mutat Res, 343: 209-218

Liu Y S, Lu Z S, Yang J W, et al. 2004. Quantification study on the DNA-protein crosslinks of human blood lymphocytes induced by formaldehyde [J]. Hubei Journal of Preventive Medicine, 15(4): 4-7 (in Chinese)

Merk O, Reiser K, Speit G. 2000. Analysis of chromate-induced DNA-protein crosslinks with the comet assay [J]. Mutation Research, 471: 71-80

Merk O, Speit G. 1998. Significance of formaldehyde-induced DNA-protein crosslinks for mutagenesis [J]. Environ Mol Mutagen, 32(3): 260-268

Merk O, Speit G. 1999. Detection of crosslinks with the comet assay in relationship to genotoxicity and cytotoxicity [J]. Environ Mol Mutagen, 33(2): 167-172

Quievryn G, Zhitkovich A. 2000. Loss of DNA-protein crosslinks from from formaldehyde-exposed cells occurs through spontaneous hydrolysis and an active repair process linked to proteosome function [J]. Carcinogenesis, 21(8): 1573-1580

Renee L B, Eric J J, Jeffrey J R, et al. 2000. A piezoelectric method for monitoring formaldehyde induce crosslink formation between polv-lvsine and poly-deoxyguanosine [J]. Talanta, 51: 159-171

Shaham J, Bomstein Y, Gurvich R, et al. 2003. DNA-protein crosslinks and p53 protein expression in relation to occupational exposure to formaldehyde [J]. Occup Environ Med, 60: 403-409

Shaham J, Bomstein Y, Meltzer A, et al. 1996. DNA-protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde-in vitro and in vivo studies [J]. Carcinogenesis, 17(1): 121-125

Shaham J, Bomstein Y, Melzer A, et al. 1997. DNA-protein crosslinks and sister chromatid exchanges as biomarkers of exposure to formaldehyde [J]. Int J Occup Environ Health, 3(2): 95-104

Speit G, Schutz P, Merk O. 2000. Induction and repair of formaldehyde-induced DNA-protein crosslinks in repair-deficient human cell lines [J]. Mutagenesis, 15(1): 85-90

Takashima H, Boerkoel C F, John J, et al. 2002. Mutation of TDP1, encoding a topoisomerase I-dependent DNA damage repair enzyme, in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy [J]. Nature Genet, 32: 267-272

Voitkun V, Zhitkovich A. 1999. Analysis of DNA-Protein crosslinking activity of malondialdehyde in vitro [J]. Mutation Research, 424: 97-106

Zhitkovich A, Costa M. 1992. A simple, sensitive assay to detect DNA-protein crosslinks in intact cells and in vivo [J]. Carcinogenesis, 13(8): 1485-1489

中文参考文献

刘英帅，鲁志松，杨继文，等. 2004. 甲醛致人血淋巴细胞 DNA-蛋白质交联作用的定量研究 [J]. 湖北预防医学杂志, 15(4): 4-7 ◆

© 1994-2007 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net