第 26卷第 2期
2006年 2月

环 境 科 学 学 报
Acta Scientiae Circumstantiae

Vol 26, No. 2
Feb., 2006

彭光银, 赵 玮, 鲁志松, 等. 2006. 甲醛致 DNA蛋白质交联作用及其修复的研究 [J]. 环境科学学报, 26(2): 331 - 336
Peng G Y, Zhao W, Lu Z S, *et al* 2006. Study on the effects of DNA-protein crosslinks induced by formaldehyde and its repair process[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 26(2): 331 - 336

甲醛致 DNA蛋白质交联作用及其修复的研究

彭光银, 赵 玮, 鲁志松, 段丽菊, 柯 珂, 曹 毅, 何胡军, 朱 燕, 杨 旭*

华中师范大学生命科学学院环境科学实验室, 武汉 430079

收稿日期: 2005-08-04 **修回日期**: 2005-11-10 **录用日期**: 2005-12-07

摘要: 为了探讨甲醛致生物机体 DNA蛋白质交联作用及其修复能力, 以昆明纯系小鼠和人肝癌细胞系 HepG2为实验材料分别进行体内和体外实验, 采用 KCl-SDS沉淀法来检测甲醛染毒后小鼠肝细胞和 HepG2细胞中 DNA蛋白质交联的含量及其修复效果. 体内实验结果表明, 低浓度的气态甲醛 (0.5 mg·m^{-3})不能引起 DNA蛋白质的交联, 较高浓度的甲醛 (1.0 mg·m^{-3}, 3.0 mg·m^{-3}, $p<0.01$)可以产生明显的 DNA蛋白质交联作用; 由 3.0 mg·m^{-3}浓度的气态甲醛产生的 DNA蛋白质交联在 12h内可以得到明显的修复, 并在 24 h内恢复到空白对照水平. 体外实验结果表明, 经低浓度液态甲醛 (25 μmol·L^{-1}和 50 μmol·L^{-1})处理后, HepG2细胞内的 DPC系数虽然稍有变化, 但是与空白对照组相比较无显著差异, 而当甲醛浓度上升至 75 μmol·L^{-1}及以上时, 细胞中的 DPC系数出现了极显著上升 ($p<0.01$); 采用 75 μmol·L^{-1}甲醛染毒 HepG2细胞, 在染毒 18h和 24 h后, 细胞内的 DPC水平较染毒结束时发生了极显著的下降 ($p<0.01$), 且与空白对照组相比无显著差异. 以上结果显示, 低浓度的甲醛不能引起 DNA蛋白质的交联, 较高浓度的甲醛可以引起明显的 DNA蛋白质的交联作用, 且甲醛所致的 DNA蛋白质交联在体内修复比体外修复所需时间要短.

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: 0253-2468(2006)02-0331-06 **中图分类号**: R994.6 **文献标识码**: A

Study on the effects of DNA-protein crosslinks induced by formaldehyde and its repair process

PENG Guangyin, ZHAO Wei, LU Zhisong, DUAN Liju, KE Ke, CAO Yi, HE Hujun, ZHU Yan, YANG Xu*

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

Received 4 August 2005; **received** in revised form 10 November 2005; **accepted** 7 December 2005

Abstract: To explore the effects of formaldehyde induced DNA-protein crosslinks (DPC) and the repair process of DPC, purebred Kunming mice and HepG2 cell line were used as experimental materials *in vivo* and *in vitro* respectively, and KCl - SDS assay were applied to determine the amount of DPC and the repair process. The results *in vivo* showed that gaseous formaldehyde could cause DPC at high concentrations (1.0 mg·m^{-3}, 3.0 mg·m^{-3}, $p<0.01$), but not happened the case at low concentrations (0.5 mg·m^{-3}). DPC induced by gaseous formaldehyde at 3.0 mg·m^{-3} could be removed within 12 hours. Meanwhile, the results *in vitro* showed that liquid formaldehyde at low concentration (25 μmol·L^{-1} and 50 μmol·L^{-1}) resulted in an insignificant increase in DPC content compared with control groups. When formaldehyde concentration was up to as high as 75 μmol·L^{-1}, DPC could be formed significantly, which could be removed significantly after 18 and 24 hours, but not happend the case after 6 and 12 hours. In combination, these results suggested that formaldehyde can induce DPC at relatively high concentration, and removing of DPC *in vivo* requires shorter time than that *in vitro*.

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

甲醛是一种常见的室内空气污染物, 也是一种生物内源性有机化合物, 因其来源广、毒性大、污染水平高、污染时间长等特点, 已成为我国主要的室内空气污染物之一. 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) (International Agency for Research on Cancer, 2004). 许多研究也证实, 甲

基金项目: 国家"十五"科技攻关项目 (No. 2001BA704B01); 国家自然基金项目 (No. 30570799)

Supported by the National Scientific Key Project (No. 2001BA704B01); National Natural Science Foundation of China (No. 30570799)

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

Biography: PENG Guangyin (1975—), male, master candidate; * **Corresponding author**, E-mail: yangxu@mail.ccnu.edu.cn

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

醛具有遗传毒性和致突变性,可以导致 DNA链断裂 (DNA strand breakage)、DNA-DNA交联 (DNA-DNA crosslinks, DDC)以及 DNA蛋白质交联 (DNA/protein crosslinks, DPC) (Conaway *et al*, 1996),其中 DPC在致癌和致突变中具有至关重要的地位. 甲醛所致 DPC主要是由组蛋白上的赖氨酸残基和 DNA上的鸟嘌呤共价结合而成,其主要形式可表示为: histone-NH-CH_2-NH-DNA. 由于甲醛仅能与 DNA单链发生作用形成 DPC,因此,DPC只可能在转录或复制的过程中形成,说明这种 DPC的存在可以阻滞 DNA的正常转录和复制,会导致染色体断裂、缺失,以及基因突变和细胞的死亡 (Renee *et al*, 2000; George Quievryn, *et al*, 2000). 因此, WHO指出 (Litep to *et al*, 2002) DPC可以作为机体潜在突变的分子标志物. 由于 DPC是癌变的重要诱因之一,甲醛与 DPC的量效关系已被用于甲醛致癌性的危险度评价.

关于甲醛所引起的 DPC效应及其修复效果,国内外已经做了相关的研究. Casanova等 (1989; 1991; 1994)进行了相关的体内实验,他们证实急性甲醛吸入可诱导大鼠和恒河猴鼻粘膜 DPC的形成. Kuykendall等 (1995)进行了甲醛暴露大鼠鼻腔嗅细胞和呼吸道上皮细胞的实验,得出甲醛浓度在 100μmol·L^{-1}及以上时 2种细胞中 DPC的含量都出现显著增加. 另外本实验室经研究也发现 (刘英帅等, 2004),在甲醛作用于人血淋巴细胞的实验中,甲醛在低浓度 (0.005mmol·L^{-1}和 0.025 mmol·L^{-1})时,DNA蛋白质的交联现象不明显或者不引起 DNA蛋白质的交联现象;在高浓度 (0.125 mmol·L^{-1}和 0.625 mmol·L^{-1})时,甲醛能显著地诱导 DPC的产生. 研究发现甲醛所致的 DPC在机体内是较难修复的, Speit等 (2000)对人类正常细胞和 2种修复缺陷型细胞内的 DPC清除效应进行了体外实验,结果发现 3种细胞至少需要 24h才能将 DPC完全清除. Quievryn和 Zhitkovich (2000)采用人肾 Ad293、肺 A549和 HF/SV成纤维细胞系对 DPC的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 11.6～13.0 h). Heck和 Casanova (2004)在其综述中指出,DPC可以在 24 h内被修复且不会在细胞内积累. 但 Shaham等 (1996)经研究认为甲醛所致的 DPC可在体内积累,并随暴露年限的增加而增加. 为了进一步探索较低浓度的气态甲醛所引起的 DPC效应及其修复效果,本研究运用 SDS-KCl沉淀法从体内实验和体外实验 2个方面来检测 DPC的形成及其修复,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.

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),其它试剂如 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 (美国 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 (武汉市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,配制成不同浓度的甲醛溶液,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 (1.00 ± 0.01) L·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·m^{-3},准确度为 ± 0.024 mg·m^{-3},数字显示读数.

1.2 实验方法和材料

1.2.1 气态甲醛染毒致 DPC及其修复试验 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 20 g左右. 实验采用动态吸入式染毒,将 24只昆明纯系雄性小鼠随机分为 4组:对照组和 3个甲醛染毒组,每组 6只小鼠. 染毒组在玻璃染毒缸 (由 8.4 L通气式干燥器改制而成)中连续动态染毒 72 h,进气口甲醛浓度分别设定为 0.5 mg·m^{-3} (23℃)、1.0 mg·m^{-3} (23℃)和 3.0 mg·m^{-3} (23℃);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 <0.01

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

$mg \cdot m^{-3}$). 染毒期间,动物定时进食和饮水,每天 2次,实验动物在染毒结束后立即脱颈处死.

修复实验染毒方案:将 30只昆明纯系雄性小鼠随机分为 5组,每组 6只,全部采用浓度为 3.0 $mg \cdot m^{-3}$ (23℃)的甲醛连续 72h染毒,分别在染毒完后 0、6、12、18、24 h脱颈处死.

肝细胞悬液的制备:以上小鼠在处死后迅速取出肝脏,用磷酸缓冲液 (PBS, pH = 7.5)缓冲液洗去表面血迹,再用眼科剪剪成糜状 (约 1 mm^3的组织块),4层纱布过滤;将细胞滤液在 1500 $r \cdot min^{-1}$下离心 5 min,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 $10^5 \sim 10^6$个$\cdot mL^{-1}$,得到的肝细胞悬液待用.

1.2.2　液态甲醛致 HepG2细胞 DPC及其修复试验　先将 HepG2细胞吹打均匀,向每个 1.5 mL的离心管中各加入 0.5 mL RPMI 1640悬浮细胞,再加入 0.5 mL HepG2细胞,然后加入甲醛使得其终浓度分别为 0、25、50、75、100$\mu mol \cdot L^{-1}$,对照组加入蒸馏水,在 37℃的水浴中孵浴 60 min. 在修复实验中,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 75 $\mu mol \cdot L^{-1}$ (根据液态甲醛致 DPC效应实验和细胞毒性实验结果选定); 将细胞放入 5%的二氧化碳细胞培养箱中 37℃下孵育 1h. 取出细胞在 1500 $r \cdot min^{-1}$下离心 5 min去掉甲醛,并用 PBS清洗 2次,再用新鲜的培养基重悬浮细胞并分成 5份,放入培养箱 37℃孵育 0、6、12、18、24h,然后对各组分别进行 DPC检测,观察 DPC的修复情况.

1.3　DPC的检测

DPC采用 KCl - SDS沉淀法 (刘英帅等, 2004; Zhitkovich *et al*, 1992; Kuykendall *et al*, 1995; Chakrabarti *et al*, 1999)检测. 首先加入 SDS,其可以和 DPC以及其它的蛋白结合,而不和自由的 DNA结合;再向样品中加入 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,具体计算公式如下:

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

细胞的裂解: 在 1.2.1节制备好的肝细胞悬液中分别加入 0.5 mL 2%的 SDS溶液并轻微振荡,然后在 65℃水浴中加热 10 min,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$\cdot L^{-1}$ Tris-HCl的 1.0 $mol \cdot L^{-1}$ 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 5 min,形成 SDS-K^+沉淀后,再在 10000 $r \cdot min^{-1}$、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$\cdot L^{-1}$ KCl, 0.1mmol$\cdot L^{-1}$ EDTA, 20 mmol$\cdot L^{-1}$ Tris-HCl, pH = 7.5)以重悬浮, 65℃水浴加热 10min,冰上骤冷 5 min,重复离心和清洗步骤 3次,每次都将上清转入 5mL离心管中.

DPC中结合 DNA的分离: 最终的沉淀重悬浮于 0.5 mL的清洗缓冲液中,然后加入 0.5 mL的蛋白酶 K(0.4 mg$\cdot mL^{-1}$,溶于清洗缓冲液中配制),50℃水浴消化 3 h,再在冰上骤冷 5 min,然后 12000 $r \cdot min^{-1}$、4℃下离心 10 min, 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、5000 ng$\cdot mL^{-1}$的小牛胸腺 DNA标准液,紧接着加入 1mL新鲜配制的 400 ng$\cdot mL^{-1}$荧光染料 Hoechst33258,使荧光染料的终浓度为 200 ng$\cdot mL^{-1}$,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 1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.

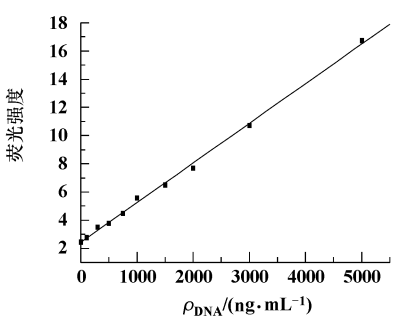

图 1　DNA浓度的标准曲线

Fig 1　The standard curve of DNA concentration

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

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 气态甲醛致小鼠肝细胞 DPC效应

用 KCl-SDS沉淀法检测各浓度气态甲醛诱导生成 DPC的实验结果见图 2. 实验结果显示,经 0.5 $mg\cdot m^{-3}$气态甲醛染毒处理后,小鼠肝细胞的 DPC系数与对照组相比没有发生显著的变化;但是,当甲醛浓度升高到 1.0 $mg\cdot m^{-3}$和 3.0 $mg\cdot m^{-3}$时,DPC系数显著上升,且与对照组相比有显著差异 ($p<0.01$). 该结果说明气态甲醛在低浓度时,不会引起 DNA-蛋白质交联,在较高浓度时,甲醛能够显著地诱导 DPC的生成,且甲醛浓度与 DPC含量具有明显的量效关系.

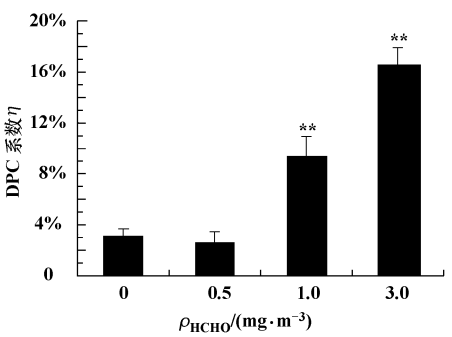

图 2 不同浓度甲醛致小鼠肝细胞 DPC效应 (**: $p<0.01$)

Fig 2 DPC formation in mice liver cells at different formaldehyde concentrations (**: $p<0.01$)

2.2 气态甲醛所致 DPC的修复实验

修复实验结果见图 3. 实验结果显示,经过 3.0 $mg\cdot m^{-3}$的气态甲醛染毒后,0 h组肝细胞内 DPC含量明显增加 ($p<0.01$),经过 6h修复后,与 0h修复组相比有非常显著性差异 ($p<0.01$),但与空白组相比,此时 DPC还没有修复完全;经过 12、18和 24 h修复后,DPC含量与 0h相比有极显著的下降,24h时 DPC含量与空白组相比无显著差异,但 12和 18 h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 12 h内基本上可以修复完全,24 h内可以恢复至机体正常水平.

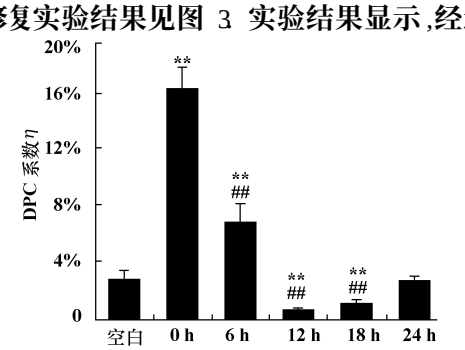

图 3 气态甲醛致小鼠肝细胞 DPC的修复 (**: $p<0.01$,与空白组比较; ##: $p<0.01$,与 0h组比较)

Fig 3 Repair 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 液态甲醛致人肝癌细胞系 HepG2致 DPC的修复实验

用液态甲醛染毒 HepG2细胞致 DPC检测结果如图 4所示. 在经 25$\mu mol\cdot L^{-1}$和 50$\mu mol\cdot L^{-1}$甲醛处理后,细胞内的 DPC系数虽然稍有变化,但是与空白对照组相比无显著差异. 而当甲醛浓度上升至 75$\mu mol\cdot L^{-1}$及以上时,染毒后细胞中的 DPC系数出现了极显著上升 ($p<0.01$). 和气态甲醛致小鼠肝细胞 DPC的结果相比较具有相同的趋势,甲醛在较低浓度时不能诱导 DPC的形成或者不能显著诱导 DPC的形成,在较高浓度时能够显著诱导 DPC的形成,且具有明显的量效关系.

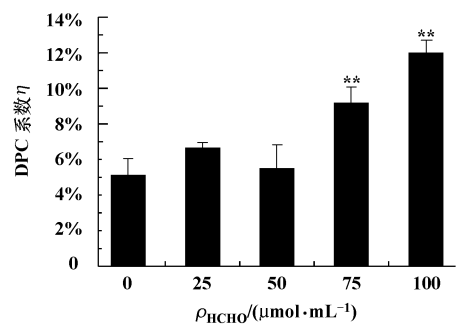

图 4 不同浓度液态甲醛致 HepG2细胞 DPC效应 (**: $p<0.01$,与对照组比较)

Fig 4 DPC formation in HepG2 cell at different formaldehyde concentrations (**: $p<0.01$, compared with control group)

2.4 液态甲醛所致人肝癌细胞系 HepG2 DPC的修复实验

采用 75 $\mu mol\cdot L^{-1}$甲醛染毒 HepG2细胞 1 h后,观察该细胞在 24 h内 DPC的修复情况如图 5所示,在对染毒细胞继续培养 6 h和 12 h后,细胞内的 DPC水平较染毒结束时 (0 h)没有发生显著变化,当继续培养至 18 h和 24 h后,细胞内的 DPC水平较染毒结束时发生了非常显著的下降 ($p<0.01$),且与空白对照组相比无显著差异. 由此推断细胞在

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

染毒 18 h和 24 h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 12～18 h之间. 同气态甲醛致小鼠肝细胞 DPC的结果相比可以发现,甲醛所致 DPC在体内修复要比体外修复的快,体内实验显示小鼠肝细胞在 12 h后 DPC基本修复至正常水平,而体外实验则显示细胞在染毒 18 h和 24 h后 DPC基本修复至正常水平,这可能是由于生物机体内修复能力比体外单个细胞修复能力更强所致.

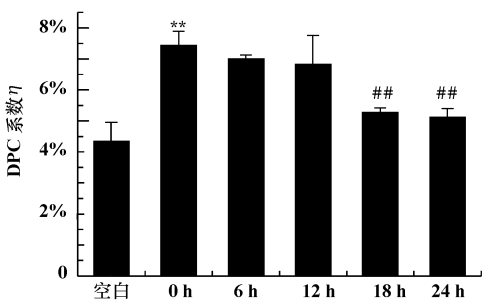

图 5　液态甲醛致 HepG2细胞 DPC的修复 (**: $p < 0.01$,与空白组比较; ##: $p < 0.01$与 0h组比较)

Fig 5　Repair of DPC induced by formaldehyde in HepG2 cell lines (**: $p < 0.01$, compared with control group; ##: $p < 0.01$, compared with 0h group)

3　结论 (Conclusions)

1)气态甲醛作用于小鼠时,在较低浓度 (0.5 mg·m^{-3})时不能诱导小鼠肝细胞 DPC的形成,而在较高浓度 (3.0 mg·m^{-3})时能够显著地诱导 DPC的生成,且甲醛浓度与 DPC含量具有明显的量效关系.

2)液态甲醛染毒 HepG2细胞时,甲醛在较低浓度 (25 μmol·L^{-1}和 50 μmol·L^{-1})时不能诱导 DPC的形成或者不能显著诱导 DPC的形成,在较高浓度 (75 μmol·L^{-1}和 100 μmol·L^{-1})时能够显著诱导 DPC的形成,且具有明显的量效关系.

3)甲醛所引起的 DPC能够得到有效修复,且体内修复明显要比体外修复快. 气态甲醛致小鼠肝细胞所产生的 DPC在 12 h内可以基本被修复,而液态甲醛致 HepG2细胞中所产生的 DPC在 18～24h才能基本修复至正常水平.

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研究 22年. Email: yangxu@mail.ccnu.edu.cn, 电话: (027) 67867774.

References:

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, Verma L K, *et al*. 1996. Formaldehyde mechanistic data and risk assessment: endogenous protection from DNA adduct formation [J]. Pharmacol Ther, 71 (1-2): 29—55

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

Heck H A, Casanova M. 2004. The implausibility if leukemia induction by formaldehyde: a critical review of the biological evidence on 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 byhexamethylphosphoramide and its correlation with formaldehyde production [J]. Mutation Research, 343: 209—218

Liteplo R G, Beauchamp R, Meek M E, *et al*. 2002. Formaldehyde. Concise International Chemical Assessment Document 40 [OL]. 2002-9, http/www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad40.htm

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

Luo J S, Gu Y J, Zhang Y P, *et al*. 1995. The effect of detoxifcation to formaldehye induced by GSH [J]. Journal of East China Normal University (Nature Science Version), 1: 101—106 (in Chinese)

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

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[J]. Carcinogenesis, 21(8): 1573—1580

Renee L Bunde, Eric J Jarvi, Jeffrey J Rosentreter, *et al* 2000. A piezoelectric method for moni-toring formaldehyde induce crosslink formation between polv-lvsine and poly- deoxyguanosine [J]. Talanta, 51: 159—171

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

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

Zhang M R, Zhou J H, Shi X J. 2005. Study on DNA crosslinks in V79 Chinese hamster cells exposed to formaldehyde [J]. Chinese Journal Public Health, 21(1): 43—45 (in Chinese)

Zhang Z Z, Heng Z C, He F, *et al* 2001. Detection of DNA crosslinks with comet assay[J]. Journal of Hygiene Research, 30(3): 146—148 (in Chinese)

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:

罗纪盛, 顾亦军, 张艳萍, 等. 1995. **GSH对甲醛的解毒作用** [J]. **华东师范大学学报(自然科学版)**, 1: 101—106

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

张美荣, 周建华, 时锡金. 2005. **甲醛致V79细胞DNA交联作用的体外研究** [J]. **中国公共卫生**, 21(1): 43—45

张遵真, 衡正昌, 贺 芳, 等. 2001. **彗星试验检测DNA交联的研究** [J]. **卫生研究**, 30(3): 146—148

© 1994-2006 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net