

黄芪多糖对甲醛染毒人骨髓间充质干细胞 DNA 损伤的保护作用

舍雅莉^{1,2}, 刘永琦^{1,2}, 孙少伯^{1,2}, 赵翊^{1,2}, 李威^{1,2}, 赵腾蛟^{1,2}, 李亚玲^{1,2*}

1. 甘肃中医药大学 甘肃省高校重大疾病分子医学与中医药防治研究省级重点实验室, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃中医药大学 敦煌医学与转化省部共建教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730000

摘要: **目的** 研究黄芪多糖 (APS) 对甲醛染毒人骨髓间充质干细胞 (BM-MSCs) DNA 损伤的保护作用及潜在机制。**方法** 体外培养人 BM-MSCs, 随机分为对照组、模型组 (甲醛) 和 APS 40、100、400 $\mu\text{g/mL}$ 组。利用 MTT 法检测细胞增殖活性, 彗星实验检测 DNA 断裂, KCl-SDS 沉淀实验检测 DNA-蛋白交联 (DPCs), qRT-PCR 和 Western blotting 检测着色性干皮病基因 A (XPA)、着色性干皮病基因 C (XPC)、DNA 修复切除修复交叉互补基因 1 (ERCC1)、复制蛋白 A1 (RPA1)、复制蛋白 A2 (RPA2) mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较, APS 40、100、400 $\mu\text{g/mL}$ 作用后, 细胞增殖活性显著升高 ($P < 0.01$), DNA 断裂和 DPCs 形成显著减少 ($P < 0.01$), XPA、XPC、ERCC1、RPA1、RPA2 mRNA 和蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 其中 APS 100 $\mu\text{g/mL}$ 组效果最明显。**结论** APS 可以保护甲醛诱导的人 BM-MSCs DNA 损伤, APS 100 $\mu\text{g/mL}$ 保护作用最为明显, 其机制可能与上调 XPA、XPC、ERCC1、RPA1 和 RPA2 基因表达, 促进 DNA 修复有关。

关键词: 黄芪多糖; 甲醛; 骨髓间充质干细胞; DNA 损伤; DNA 修复

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)12-2928-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.12.027

Protective effect of Astragalus polysaccharide on DNA damage in human BM-MSCs exposed to formaldehyde

SHE Ya-li^{1,2}, LIU Yong-qi^{1,2}, SUN Shao-bo^{1,2}, ZHAO Yi^{1,2}, LI Wei^{1,2}, ZHAO Teng-jiao^{1,2}, LI Ya-ling^{1,2}

1. Provincial Level Key Laboratory for Molecular Medicine of Major Diseases and the Prevention and Treatment with Traditional Chinese Medicine Research in Gansu Colleges and Universities, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

2. Key Laboratory of Dunhuang Medicine and Transformation at Provincial and Ministerial Level, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective To study the protective effect of Astragalus Polysaccharide (APS) on DNA damage in human BM-MSCs exposed to formaldehyde and to initially explore the potential mechanism. **Methods** BM-MSCs were cultured *in vitro* and divided into control group, formaldehyde group, and APS at 40, 100, and 400 $\mu\text{g/mL}$ groups. Proliferation activity was measured by MTT assay, DNA strand breakage was detected by comet assay, DNA-protein crosslinks (DPCs) was detected by KCl-SDS precipitation assay, and the mRNA and protein expression of XPA, XPC, ERCC1, RPA1 and RPA2 were detected by qRT-PCR and Western blotting. **Results** Compared with model group, formaldehyde-contaminated BM-MSCs were treated with APS at 40, 100, and 400 $\mu\text{g/mL}$, the cell proliferation activity was increased significantly ($P < 0.01$), DNA strand breakage and DPCs level were decreased significantly ($P < 0.01$), and the mRNA and protein expression of XPA, XPC, ERCC1, RPA1, and RPA2 were up-regulated significantly ($P < 0.05, 0.01$). Among them, the effect of 100 $\mu\text{g/mL}$ APS group was the most obvious. **Conclusion** APS can protect formaldehyde-induced BM-MSCs DNA damage, especially 100 $\mu\text{g/mL}$ APS has the most obvious effect. The mechanism may be associated with the up-regulation of XPA, XPC, ERCC1, RPA1, and RPA2, which promoted the repair of DNA damage.

Key words: astragalus polysaccharide; formaldehyde; bone marrow mesenchymal stem cells; DNA damage; DNA repair

收稿日期: 2019-04-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81560667); 甘肃省自然科学基金资助项目 (1506RJZA045)

作者简介: 舍雅莉, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药防治肿瘤研究。E-mail: sheyali@sina.com

*通信作者 李亚玲, 博士研究生, 讲师, 从事中药防治肿瘤研究。Tel: (0931)5161241 E-mail: 2311542597@qq.com

甲醛作为一种环境污染广泛地存在于汽车尾气、烟草烟雾和各种家居装饰品中,对眼、呼吸、免疫、神经、造血系统具有明显毒性作用,可引起细胞 DNA 损伤^[1-2]。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)是存在于骨髓中的多能干细胞,不仅具有多向分化潜能,还能调节造血干细胞的正常增殖和分化^[3-4]。因此, BM-MSCs 一旦受损,就会影响骨髓的正常造血,可能导致白血病的发生。黄芪多糖(astragalus polysaccharide, APS)是黄芪的主要有效成分之一,研究表明,合适浓度的 APS 能促进人骨髓细胞中红细胞系和粒细胞系祖细胞的生成以及对骨髓抑制的小鼠血常规有改善作用^[5-6]。因此本研究使用甲醛诱导人 BM-MSCs DNA 损伤,探讨 APS 对人 BM-MSCs DNA 损伤的保护作用及潜在机制,为黄芪防治白血病提供实验依据。

1 材料

1.1 细胞

BM-MSCs 购自于 Cyagen 公司,批号 HUXMA-01001。

1.2 药品与试剂

APS(质量分数≥98%,批号 SA9790,北京索莱宝科技有限公司);甲醛(质量分数 37%,批号 47608, Sigma 公司);DMEM/F-12 培养基、胎牛血清(Cyagen 公司);MTT、低熔点琼脂糖、正常熔点琼脂糖(Biowest 公司);蛋白酶 K(Promega 公司);Hoechst33258、细胞裂解液(上海碧云天生物技术有限公司);着色性干皮病基因 A(XPA)、着色性干皮病基因 C(XPC)、DNA 修复切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)、复制蛋白 A1(RPA1)、复制蛋白 A2(RPA2)、GAPDH 抗体,山羊抗兔 IgG(Bioworld 公司);PVDF 膜、ECL 超敏发光液(Millipore 公司);Trizol 总 RNA 提取试剂盒、第一链 cDNA Synthesis Kit、2×SYBR Green qPCR mix(德国 Qiagen 公司)。

1.3 仪器

CO₂ 细胞培养箱(日本三洋电机公司);荧光显微镜(日本奥林巴斯株式会社);荧光分光光度计(日本岛津公司);连续波长酶标仪、荧光实时定量 PCR(qRT-PCR)仪、凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养及分组

BM-MSCs 用含 10%胎牛血清的 DMEM/F-12

培养基,置于 5% CO₂、37 °C、饱和湿度的培养箱中培养。取对数生长期细胞胰酶消化,接种,随机分为对照组、模型组和 APS 40、100、400 μg/mL 组。对照组细胞加入 DMEM/F-12 培养基,模型组细胞加入含甲醛 120 μmol/L 的 DMEM/F-12 培养基,APS 组分别加入含 APS 40、100、400 μg/mL 和甲醛 120 μmol/L 的 DMEM/F-12 培养基。培养 24 h 后进行后续实验。

2.2 MTT 法检测细胞增殖活性

BM-MSCs 调整到 4×10³ 个/孔,接种于 96 孔板,按照“2.1”项进行分组及处理,另设空白组,各孔加入 MTT 20 μL,孵育 4 h。弃上清,加入 DMSO 振荡,酶标仪在 490 nm 处测定吸光度(A)值,计算各组细胞增殖率。

$$\text{细胞增殖率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 彗星实验检测 DNA 链断裂

取对数生长期 BM-MSCs,在磨砂载玻片上制备 1%的正常熔点琼脂糖凝胶,将细胞悬液与 1%的低熔点琼脂糖混匀(体积比 1:3),铺到底胶上,浸入含 40%蛋白酶 K 的裂解液中裂解。然后浸入 4 °C 电泳缓冲液中解旋 30 min,调节电压 15 V,电流 300 mA,避光电泳 25 min。用 1%的 H₂O₂ 固定,碘化丙啶(PI)染色 30 min,荧光显微镜观察并进行拍照,应用彗星实验专业分析软件 CASP 对采集的图片进行分析,每个处理组随机选取 20 个细胞。采用国际公认的 Olive 尾矩(OTM)值对 DNA 链的断裂进行评价(OTM 值=彗星头尾部密度重心间距离×彗尾 DNA 含量)。

2.4 KCl-SDS 沉淀实验检测 DNA-蛋白交联(DPCs)形成

取对数生长期 BM-MSCs,加入 2% SDS 溶液,65 °C 水浴裂解,再加入 1 mol/L 的 KCl 充分混匀细胞,冰浴 5 min,形成 SDS-K⁺沉淀,离心,收集上清和沉淀,此上清中为游离的 DNA。将收集的沉淀加入 40%蛋白酶 K,50 °C 水浴消化,离心收集上清,此上清中为 DPCs 中的 DNA。以小牛胸腺 DNA 为标准绘制标准曲线。取上述含自由 DNA 和交联 DNA 的上清液 1 mL,加入 Hoechst 33258 染色 30 min。用荧光分光光度仪在 353 nm 激发光和 455 nm 发射光下测得各组的荧光值,根据标准曲线来定量自由 DNA 和交联 DNA 浓度,计算 DPCs 水平。

$$\text{DPCs} = \text{交联 DNA 浓度} / (\text{交联 DNA 浓度} + \text{自由 DNA 浓度})$$

2.5 qRT-PCR 检测 XPA、XPC、ERCC1、RPA1、RPA2 mRNA 表达

取对数生长期 BM-MSCs, 根据 Trizol 法提取细胞总 RNA, 按照逆转录反应试剂盒说明书合成 cDNA, 按照 qRT-PCR 试剂盒说明书, 检测基因表达水平。基因引物序列为 GAPDH 上游: 5'-ATGGT-TTACATGTTCCAATATG-3', 下游: 5'-ATTTTGGAG-GGATCTCGCTC-3', 产物长度 128 bp; XPA 上游: 5'-CTACTGGAGGCATGGCTAAT-3', 下游: 5'-CCA-TAACAGGTCCTGGTTGA-3', 产物长度 132 bp; XPC 上游: 5'-ACTGCGCAGCCAGAAATCC-3', 下游: 5'-CTTTGGAGAGAAGGCTCTTC-3', 产物长度 107 bp; ERCC1 上游: 5'-ATGGACCCTGGGAAGGACA-3', 下游: 5'-TCTGTGTAGATCGGAATAAGG-3', 产物长度 133 bp; RPA1 上游: 5'-ATGCAGAAGGGG-ATACAA-3', 下游: 5'-ACTGTGTCGCCAACATGAA-3', 产物长度 145 bp; RPA2 上游: 5'-ATGACAGCTG-CACCCATG-3', 下游: 5'-TGTTCTGAAAAGATCTC-AGG-3', 产物长度 124 bp。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算实验组各基因的相对表达水平。

2.6 Western blotting 法检测 XPA、XPC、ERCC1、RPA1、RPA2 蛋白表达情况

取对数生长期 BM-MSCs, 加入 200 μ L 裂解液, 细胞刮棒刮取、收集细胞。离心, 取上清液, 按 1:3 加入上样缓冲液, 98 $^{\circ}$ C 煮沸变性, -20 $^{\circ}$ C 冰箱备用。配制 12% 聚丙烯酰胺凝胶, 进行电泳分离蛋白。PVDF 转膜后脱脂牛奶封闭 2 h, 4 $^{\circ}$ C 孵育一抗 (1:1 000) 过夜, 室温孵育二抗 (1:4 000) 2 h, ECL 发光剂显影成像。用 Quantity One 图像分析软件分析各目的条带与相应 GAPDH 的灰度比值, 计算各蛋白的相对表达水平。

2.7 统计学分析

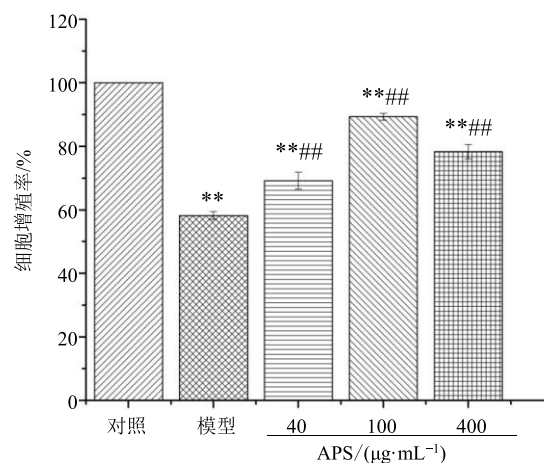
实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 17.0 for Windows 软件进行统计学分析。多组间比较采用方

差不齐性检验和单因素方差分析 (One-way ANOVA)。

3 结果

3.1 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs 增殖活性的影响

MTT 结果显示 (图 1), 与对照组比较, 模型组细胞增殖活性显著下降 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 用 APS 40、100、400 μ g/mL 处理后细胞增殖活性显著升高 ($P < 0.01$), APS 100 μ g/mL 作用最显著。



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$, 图 3、4 同

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group, same as Fig. 3 and 4

图 1 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs 增殖活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 1 Effect of APS on proliferation activity of formaldehyde-contaminated BM-MSCs ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.2 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs DNA 断裂的影响

彗星实验结果显示 (图 2、3), 甲醛作用 BM-MSCs 后, DNA 断裂效应较对照组显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, APS 40、100、400 μ g/mL 干预后, 细胞 DNA 断裂显著减少 ($P < 0.01$), 其中 APS 100 μ g/mL 干预效果最为明显, 与对照组无明显差异。

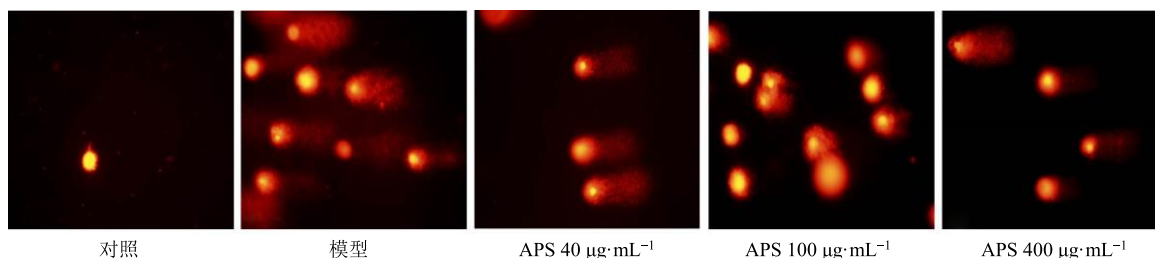


图 2 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs DNA 断裂的影响

Fig. 2 Effect of APS on DNA strand breakage in formaldehyde-contaminated BM-MSCs

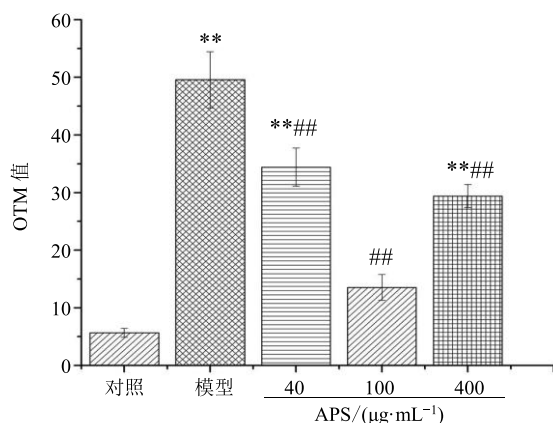


图 3 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs DNA 断裂的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Fig. 3 Effect of APS on DNA strand breakage in formaldehyde-contaminated BM-MSCs ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

3.3 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs DPCs 的影响

KCl-SDS 沉淀实验结果显示 (图 4), 与对照组比较, 甲醛可明显引起 BM-MSCs DPCs 形成 ($P < 0.01$)。与模型组比较, APS 40、100 $\mu\text{g/mL}$ 能明显降低 BM-MSCs DPCs 水平 ($P < 0.01$)。

3.4 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs XPA、XPC、ERCC1、RPA1、RPA2 mRNA 表达的影响

qRT-PCR 结果显示 (图 5), 与对照组比较, 模型组细胞 RPA1、RPA2 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, APS 40、100、400 $\mu\text{g/mL}$ 作用后, 细胞 RPA1、RPA2 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$), 其中 APS 100 $\mu\text{g/mL}$ 组升高最明显。与

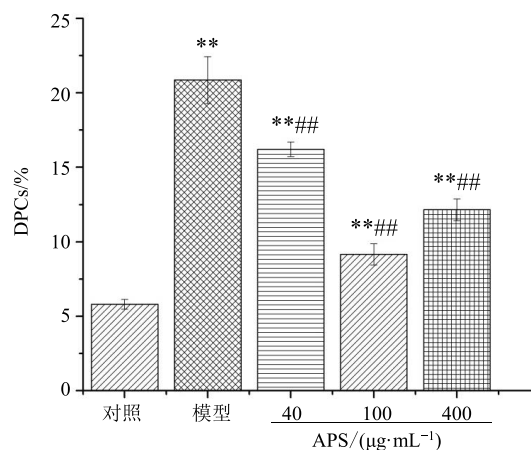


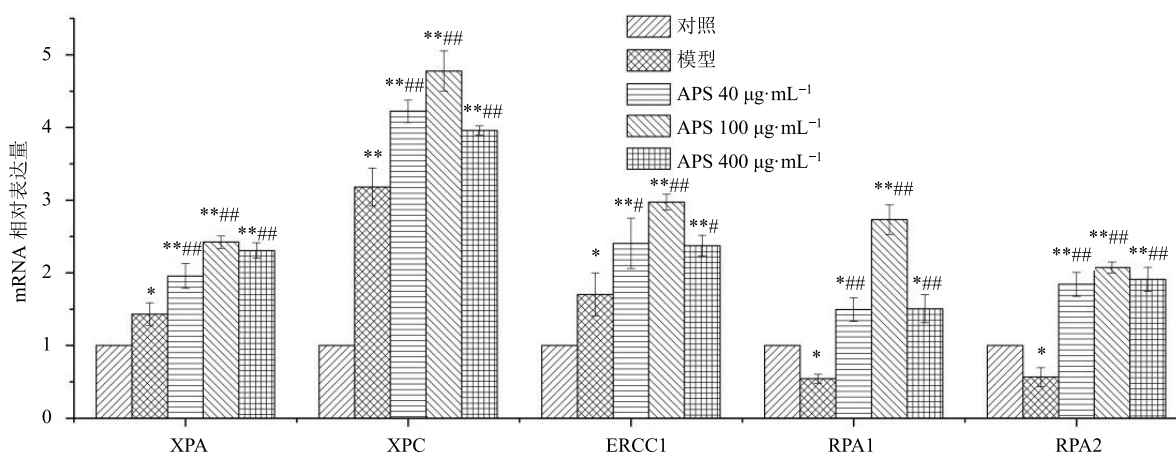
图 4 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs DPCs 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 4 Effect of APS on DPCs in formaldehyde-contaminated BM-MSCs ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

对照组比较, 模型组与 APS 各质量浓度组 XPA、XPC、ERCC1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组比较, APS 各质量浓度组细胞 XPA、XPC、ERCC1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.5 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs XPA、XPC、ERCC1、RPA1、RPA2 蛋白表达的影响

Western blotting 结果显示 (图 6), 与对照组比较, 模型组细胞中 RPA1、RPA2 和 XPA 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), XPC 和 ERCC1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, APS 40、100、400 $\mu\text{g/mL}$ 组细胞 RPA1、RPA2、XPA、XPC 和 ERCC1 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$, 图 6 同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ vs model group, same as Fig. 6

图 5 APS 对甲醛染毒 BM-MSCs XPA、XPC、ERCC1、RPA1 和 RPA2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 5 Effect of APS on expression of XPA, XPC, ERCC1, RPA1, and RPA2 mRNA in formaldehyde-contaminated BM-MSCs ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

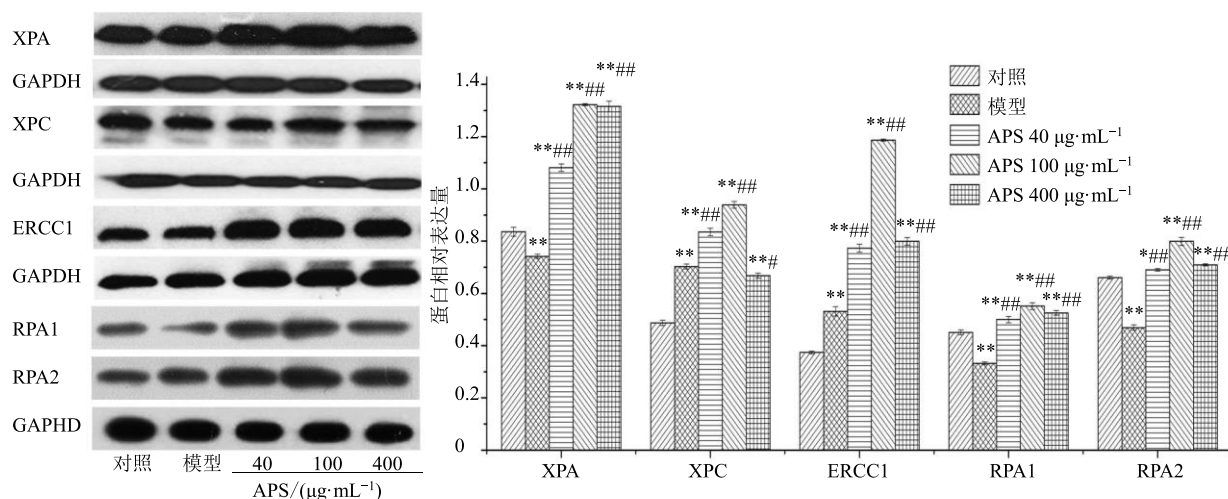


图6 APS对甲醛染毒BM-MSCs XPA、XPC、ERCC1、RPA1和RPA2蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Effect of APS on expression of XPA, XPC, ERCC1, RPA1, and RPA2 protein in formaldehyde-contaminated BM-MSCs ($\bar{x} \pm s, n=3$)

4 讨论

前期研究已证实甲醛可以导致BM-MSCs DNA损伤^[7]。因此,本研究的主要目的是探讨APS对甲醛诱导BM-MSCs DNA损伤的保护作用及机制。首先检测了APS对甲醛染毒BM-MSCs增殖活性的影响,结果发现,APS能够有效提高甲醛染毒BM-MSCs增殖活性,推测APS能够增强DNA复制,从而提高增殖活性。细胞内DNA复制与DNA修复是2个相辅相成的过程,因此本实验通过检测DNA损伤程度评价APS的促DNA修复作用。

DNA断裂和DPCs形成被认为是甲醛导致DNA损伤的主要表现形式,甚至有报道认为,DPCs是甲醛诱导癌变的分子标志,DPCs水平越高,癌变的风险就越高^[8]。本实验通过检测DNA断裂和DPCs形成水平研究甲醛染毒人BM-MSCs DNA损伤的程度,研究发现APS干预组DNA损伤较模型组明显减轻,说明APS能够促进甲醛环境中人BM-MSCs DNA损伤的修复,从而起到保护甲醛染毒人BM-MSCs DNA损伤的作用。

当外界因素作用于机体导致DNA损伤时,为保持自身遗传的稳定性,机体会动员相应的修复机制来逆转这些损伤。核苷酸切除修复(NER)通路是DNA损伤修复机制中一条重要的通路,主要修复DNA的加合物以及链间交联^[9]。XPA和XPC作为DNA损伤识别因子在损伤修复的识别阶段起重要作用,ERCC1主要在对损伤DNA单链片段的切除阶段发挥重要作用,而且ERCC1功能活动的高

低可反映整个NER修复活性水平^[10-11]。本研究发现,模型组XPC、ERCC1 mRNA和蛋白表达水平均较对照组显著升高,说明XPC和ERCC1可能参与了甲醛导致人BM-MSCs DNA损伤的修复。APS各浓度组细胞XPA、XPC、ERCC1 mRNA和蛋白表达水平均较模型组显著升高,提示APS通过上调XPA、XPC、ERCC1 mRNA和蛋白表达从而促进DNA损伤的修复,这与APS明显减轻甲醛染毒人BM-MSCs DNA断裂和DPCs的结果相一致。另外,研究还发现模型组XPA mRNA表达水平较对照组升高,而XPA蛋白表达水平却下降,这可能与蛋白降解有关,也可能受miRNA作用,从翻译水平上进行调节,使蛋白不表达或直接降解XPA mRNA有关。

复制蛋白A(RPA)是由RPA1(RPA70)、RPA2(RPA32)和RPA3(RPA14)3个相关亚基组成的真核单链DNA结合蛋白,在几乎所有的DNA代谢途径中都发挥着重要作用^[12]。RPA不但参与DNA复制的起始和延伸以及冈崎片段的组织,而且还参与NER修复。DNA损伤后,RPA可以保护单链DNA不被核反应降解和发夹形成^[13],同时,RPA参与DNA损伤识别,RPA复合体中RPA1和RPA2与XPA结合,形成RPA-XPA复合物,保障了NER的顺利进行^[14-15]。本实验发现,RPA1、RPA2 mRNA和蛋白在甲醛作用时表达水平明显下降,说明未参与甲醛导致DNA损伤的修复,而且DNA损伤延滞了细胞周期的进行,会抑制DNA的复制,故复制蛋白RPA1、RPA2表达下降。而APS作用后RPA1,

RPA2 mRNA 和蛋白表达较甲醛组明显升高,说明 APS 可能促进 RPA1、RPA2 与损伤的识别,形成 RPA-XPA 复合物,从而保证 NER 的顺利进行。另外,随着 DNA 损伤的修复,促进了细胞的复制,故复制蛋白 RPA1、RPA2 表达上升。

本研究还发现 APS 各质量浓度对甲醛染毒人 BM-MSCs 的保护作用呈现出先增高后降低趋势,提示 APS 虽然具有良好的促进 DNA 损伤修复的功能,但是其使用质量浓度存在一定的合理范围,质量浓度大于 100 $\mu\text{g/mL}$ 时,APS 可能会对人 BM-MSCs 产生毒性影响,加重 DNA 损伤。然而,体外实验缺少了机体的整体系统,正常情况下,药物在体内要经过吸收、分布、首关效应,其作用效果还受神经内分泌、免疫等复杂因素影响,因此还需体内实验来进一步确定黄芪多糖的有效浓度或者将产生体外毒性的体外浓度与相应体内剂量联系起来。

综上所述,APS 对甲醛诱导的 BM-MSCs DNA 损伤具有显著保护作用,尤其以 APS 100 $\mu\text{g/mL}$ 作用最为明显,可能与上调 NER 通路的 XPA、XPC、ERCC1、RPA1、RPA2 基因表达,促进 DNA 损伤修复有关。但其具体的安全作用剂量范围,还有待进一步研究、明确。

参考文献

- [1] Liang X, Zhang J, Song W, *et al.* Formaldehyde exposure in indoor air from public places and its associated health risks in kunshan city, China [J]. *Asia Pac J Public Health*, 2018, 30(6): 551-560.
- [2] She Y L, Li Y, Liu Y Q, *et al.* Formaldehyde induces toxic effects and regulates the expression of damage response genes in BM-MSCs [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2013, 45(12): 1011-1120.
- [3] Moore K A, Lemischka I R. Stem cells and their niches [J]. *Science*, 2006, 311: 1880-1885.
- [4] Méndez-Ferrer S, Michurina T V, Ferraro F, *et al.* Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche [J]. *Nature*, 2010, 466(7308): 829-834.
- [5] 李影迪, 初杰, 范颖, 等. 当归多糖与黄芪多糖配伍对骨髓造血干细胞增殖分化的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(6): 31-34.
- [6] 徐尚福, 杨天华, 吴芹, 等. 黄芪多糖对环磷酰胺引起小鼠骨髓抑制后造血功能的修复作用 [J]. *遵义医学院学报*, 2011, 34(5): 473-476.
- [7] 舍雅莉, 刘永琦, 李屹, 等. 甲醛对鼠 BM-MSCs 细胞系的遗传毒性影响 [J]. *基础医学与临床*, 2014, 34(4): 454-458.
- [8] Liu C W, Tian X, Hartwell H J, *et al.* Accurate measurement of formaldehyde-induced DNA-protein cross-links by high-resolution orbitrap mass spectrometry [J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31(5): 350-357.
- [9] Kumari A, Lim Y X, Newell A H, *et al.* Formaldehyde-induced genome instability is suppressed by an XPF-dependent pathway [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2012, 11(3): 236-246.
- [10] Pajuelo-Lozano N, Bargiela-Iparraguirre J, Dominguez G, *et al.* XPA, XPC, and XPD modulate sensitivity in gastric cisplatin resistance cancer cells [J]. *Front Pharmacol*, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.01197.
- [11] Faridounnia M, Folkers G E, Boelens R. Function and interactions of ERCC1-XPF in DNA damage response [J]. *Molecules*, 2018, doi: 10.3390/molecules23123205.
- [12] Marechal A, Zou L. RPA-coated single-stranded DNA as a platform for post-translational modifications in the DNA damage response [J]. *Cell Res*, 2015, 25(1): 9-23.
- [13] Krasikova Y S, Rechkunova N, Maltseva E A, *et al.* Localization of xeroderma pigmentosum group A protein and replication protein A on damaged DNA in nucleotide excision repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(22): 8083-8094.
- [14] Saijo M, Takedachi A, Tanaka K. Nucleotide excision repair by mutant xeroderma pigmentosum group A (XPA) proteins with deficiency in interaction with RPA [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(7): 5476-5483.
- [15] Vasquez K M, Christensen J, Li L, *et al.* Human XPA and RPA DNA repair proteins participate in specific recognition of triplex-induced helical distortions [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(9): 5848-5853.