



## 极端嗜热古菌 DNA 修复核酸内切酶的研究进展

李玉婷, 史昊强, 张立奎\*

扬州大学环境科学与工程学院海洋科学研究所, 江苏 扬州 225127

**摘要:** 极端嗜热古菌由于生活在高温环境, 其基因组 DNA 面临着严重的挑战, 因此, 它们如何维持其基因组稳定是本研究领域最为关注的科学问题之一。极端嗜热古菌具有与常温微生物相似的自发突变频率, 暗示着它们比常温微生物具有更加有效的 DNA 修复体系进行修复高温所造成的基因组 DNA 损伤。目前, 极端嗜热古菌 DNA 修复的分子机制尚不清楚。核酸内切酶在 DNA 修复途径中发挥着重要的作用。基因组序列显示极端嗜热古菌编码多种 DNA 修复核酸内切酶, 但是其研究尚处于初期阶段。本文综述了极端嗜热古菌 DNA 修复核酸内切酶 NucS、EndoV、EndoQ、XPF 和 Hjc 的研究进展, 并对今后的研究提出了展望。

**关键词:** 极端嗜热古菌, 核酸内切酶, DNA 修复

作为第三种生命形式, 古菌在全球的生物地球化学作用中扮演着不可替代的角色。古菌细胞具有无细胞核的单细胞超微结构, 与细菌细胞相似, 但在 DNA 信息传递方面与真核细胞有很高的相似性<sup>[1]</sup>, 暗示着古菌是真核生物 DNA 复制和 DNA 修复系统的理想模型。近年来, 随着宏基因组及单细胞基因组测序技术的发展, 人们发现了许多之前未被鉴定的古菌, 很大程度上丰富了古菌的分类系统<sup>[2]</sup>。基于其独特的进化地位、代谢途径、生长环境和分布范围, 古菌已成为微生物学家关注的热点之一。

极端嗜热古菌是指最适生长温度在 80 °C 以

上的古菌<sup>[3]</sup>, 主要发现于大洋底部的高压热液口、火山口、陆地热泉等高温环境。自从于黄石公园分离出第一个极端嗜热古菌 *Sulfolobus acidocaldarius* 以来, 目前已有 90 多种极端嗜热古菌被发现<sup>[3]</sup>, 几乎涵盖所有的泉古菌、部分广古菌和少数其他古菌。开展极端嗜热古菌的研究, 不仅有利于了解高温环境下生命的适应机制, 开发嗜热酶, 而且对于分析生命起源、研究生命进化规律具有重要参考价值。

极端嗜热古菌生存的高温环境加剧了基因组 DNA 的损伤, 其基因组面临着严重的挑战<sup>[4]</sup>, 因此, 极端嗜热古菌如何维持其基因组稳定性是本

基金项目: 扬州大学中青年学术带头人项目; 江苏省大学生科技创新项目(201711117059Y)

\*通信作者。Tel: +86-514-89795882; E-mail: lkzhang@yzu.edu.cn

收稿日期: 2018-12-21; 修回日期: 2019-02-26; 网络出版日期: 2019-03-07

研究领域最为关注的科学问题之一。研究发现,高温会加速碱基的脱氨基反应,形成损伤碱基(腺嘌呤、鸟嘌呤和胞嘧啶的脱氨基分别生成次黄嘌呤、黄嘌呤和尿嘧啶)<sup>[5]</sup>。高温也会加剧 DNA 碱基的水解,造成基因组积累过多的 AP (apurinic/aprimidinic) 位点<sup>[6]</sup>。例如,极端嗜热古菌 *Pyrococcus abyssi* 基因组中 AP 位点的含量比大肠杆菌高 10 倍<sup>[7]</sup>。如果这些损伤碱基得不到修复,进一步的复制将会引起基因的突变。但是,极端嗜热古菌 *S. acidocaldarius* 与常温微生物具有相似的自发突变频率<sup>[8]</sup>,暗示着极端嗜热古菌具有比常温微生物更为强大的 DNA 修复系统应对高温对其基因组 DNA 的挑战。

极端嗜热古菌的 DNA 修复途径一直受到人们的关注。目前,基因组数据显示,极端嗜热古菌编码多种参与 DNA 修复的相关蛋白<sup>[9]</sup>,但缺少 MMR (mismatch repair) 途径中 MutS/MutL 同源物<sup>[10]</sup>。生化性质和晶体结构的数据阐明了一些极端嗜热古菌 DNA 修复蛋白的催化机制及其介导的修复途径<sup>[9]</sup>。但是,目前极端嗜热古菌的 DNA 修复机制尚不清楚。核酸内切酶在 DNA 修复途径中发挥着重要的作用。本文总结了极端嗜热古菌 DNA 修复核酸内切酶 NucS、EndoV、EndoQ、XPF 和 Hjc 的研究进展,并对今后的研究提出了展望。

## 1 古菌核酸内切酶 NucS

古菌核酸内切酶 NucS 首次在极端嗜热古菌 *P. abyssi* 中被发现。对其生化性质的研究表明,该酶能够切割侧翼和叉形结构的 ssDNA<sup>[11]</sup>。晶体结构表明, Pab-NucS 为二聚体,并且该酶能够与滑动夹 PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 相互作用<sup>[11]</sup>,从而将该酶招募到 DNA 复制叉上。

最近, Ishino 等发现极端嗜热古菌 *Pyrococcus furiosus* 核酸内切酶 NucS 能够切割错配的 DNA,并将该酶命名为 EndoMS<sup>[12]</sup>,暗示着该酶参与了错配修复,从而为阐述极端嗜热古菌的错配修复途径提供了重要的启示。对极端嗜热古菌 *Thermococcus kodakarensis* 的核酸内切酶 EndoMS 的研究发现,该酶能够切割含有错配碱基的 DNA 双链,其切割产物留下 5 个碱基的 5' 突出端 (图 1)<sup>[12]</sup>。进一步的研究发现, Tko (*Thermococcus kodakarensis*)-EndoMS 对错配 DNA 比对分支或 ssDNA 具有更高的亲和力。另外, Tko-EndoMS 的晶体结构显示,该酶包裹错配的 DNA 底物,翻出两个碱基并以与 II 型限制性核酸内切酶相似的方式切割 DNA 磷酸二酯键<sup>[13]</sup>。此外, Tko-EndoMS 具有对 G:T、G:G、T:T、T:C 和 A:G 错配切割活性,但在体外不能切割 C:C、A:C 或 A:A 错配<sup>[12]</sup>,这与该酶对含有不匹配 G 或 T 的底物具有更高亲和力相一致<sup>[13]</sup>。

核酸内切酶 NucS 在古菌中具有广泛的分布,存在于一些极端嗜热古菌和嗜盐古菌中。核酸内切酶 NucS 也存在于一些细菌中,通常存在不含有 MutS/MutL 的 *Actinobacteria* 门。最新的研究发现,

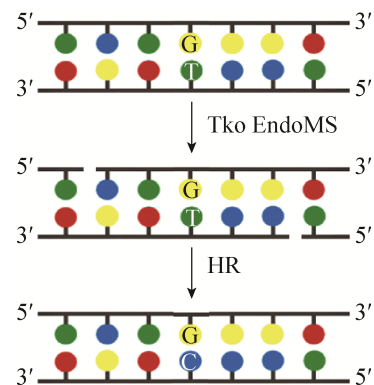


图 1. Tko-EndoMS 介导的 DNA 中错配(G:T)的修复<sup>[12]</sup>  
Figure 1. Repair of mismatch (G:T) in DNA remediated by Tko-EndoMS<sup>[12]</sup>.

*Mycobacterium smegmatis* 中核酸内切酶 NucS 的缺失会使突变率增加约 100 倍, 从而导致超突变表型。增加的突变率是由于碱基转换(A:T 至 G:C 转换或 G:C 至 A:T 转换)水平升高所引起, 这些转换是典型 MMR 缺陷所引起的突变<sup>[14]</sup>。此外, 敲除 *Streptomyces coelicolor* 核酸内切酶 NucS 的基因后, 也观察到类似的结果<sup>[14]</sup>。

## 2 古菌核酸内切酶 V

如前文所述, 高温会使极端嗜热古菌基因组 DNA 积累更多的尿嘧啶、次黄嘌呤或 AP 位点。存在于所有的生物体中的碱基切除修复(base excision repair, BER), 是修复上述损伤碱基的经典途径<sup>[15]</sup>。除了经典的 BER 之外, 选择性切除修复(alternative excision repair, AER)也是修复尿嘧啶、次黄嘌呤或 AP 位点的途径之一。通常, AER 途径首先由

核酸内切酶所引发, 即核酸内切酶在损伤碱基的附近切割 DNA 的磷酸二酯键, 产生一个切口<sup>[16]</sup>。

核酸内切酶 V (EndoV)是介导 AER 途径中第一个被研究的核酸内切酶, 它能够识别和切割含有次黄嘌呤的 DNA, 其切割位点为损伤碱基次黄嘌呤下游 3'端的第二个磷酸二酯键(图 2)。EndoV 最初在大肠杆菌中被鉴定出, 由 *nif* 基因所编码。对 *E. coli nif* 突变株的分析显示, *E. coli*-EndoV 在细胞内次黄嘌呤的修复中发挥了重要的作用。除此之外, 在细胞外该酶对 AP 位点、侧翼 DNA 和 Y-型 DNA 结构等 DNA 底物具有内切酶活性<sup>[17]</sup>。EndoV 同源蛋白非常保守, 存在于三域生物中<sup>[18]</sup>。然而, 具有 EndoV 同源基因介导的 AER 途径在古菌细胞中是否起实际作用尚未确定。

目前, 已有几种极端嗜热古菌 EndoV 被报道具有不同的功能。*Archaeoglobus fulgidus* 和 *P. furiosus*

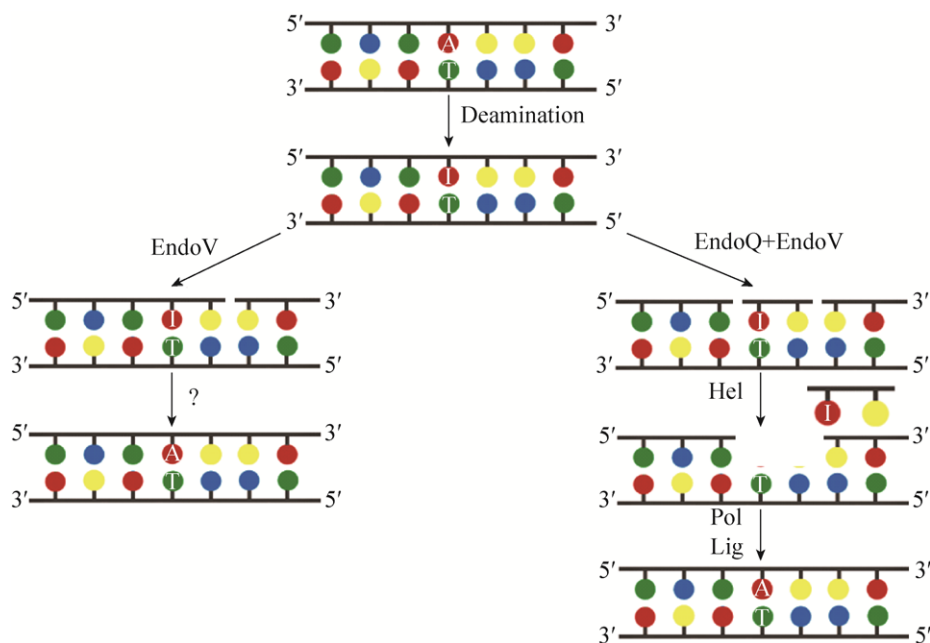


图 2. EndoQ 和 EndoV 介导的 DNA 中次黄嘌呤的修复

Figure 2. Repair of hypoxanthine in DNA mediated by EndoQ and EndoV. Endo: Endonuclease; Hel: Helicase; Pol: Polymerase; Lig: Ligase.

的 EndoV 蛋白在体外对含次黄嘌呤的底物具有严格的特异性<sup>[19-20]</sup>。而 *Ferroplasma acidarmanus*-EndoV 由 O<sup>6</sup>-烷基鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶结构域和 EndoV 结构域组成,在体外能够切割含有尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤碱基的 DNA 底物<sup>[21]</sup>,表明,该酶对脱氨基的碱基具有更广泛的特异性。

我们实验室最近从极端嗜热古菌 *Thermococcus barophilus* Ch5 基因组中克隆表达并纯化了 EndoV,简称为 Tba-EndoV<sup>[22]</sup>。对其生化性质研究发现,该酶专一性地切割含有次黄嘌呤的 DNA,并且切割含有次黄嘌呤的 ssDNA 底物的效率比切割含有次黄嘌呤的 dsDNA 底物的效率要高。凝胶阻滞实验结果表明,Tba-EndoV 结合含有次黄嘌呤的 ssDNA 底物的能力比结合含有次黄嘌呤的 dsDNA 底物的能力要强,这与其切割活性相一致。

### 3 古菌核酸内切酶 Q

除了 EndoV 介导 AER 途径进行修复损伤 DNA 之外,最近,已在极端嗜热古菌 *P. furiosus* 中鉴定得到第二个核酸内切酶,命名为 EndoQ<sup>[23]</sup>。研究发现,Pfu-EndoQ 能够切割尿嘧啶、次黄嘌呤或无碱基位点的 5'端的 DNA 磷酸二酯键<sup>[24]</sup>,形成一个切口,但是后续的修复途径尚未阐明(图 3)。Pfu-EndoQ 具有 PHP domain,包含了一些 C 和 X 家族的 DNA 聚合酶中保守的结构域。此外,Pfu-EndoQ 的 C 末端含有 4 个 Cys 残基,是 EndoQ 家族的特征。

与 EndoV 相比,EndoQ 酶在古菌中具有狭窄的分布<sup>[24]</sup>。基因组序列显示 EndoQ 仅仅存在于 *Thermococcales* 和产甲烷菌中,而大多数细菌和真核生物中不存在 EndoQ。EndoQ 有限的分布,暗示了该酶参与损伤碱基的专一性修复途径。

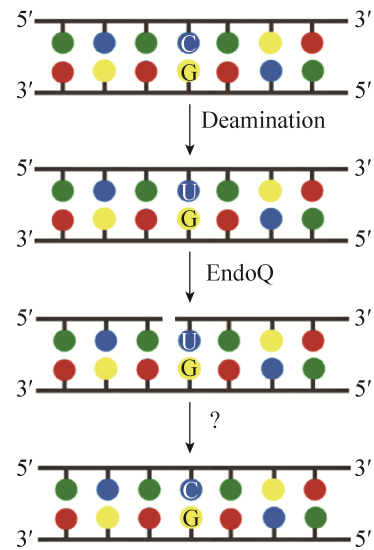


图 3. EndoQ 介导的 DNA 中尿嘧啶的修复

Figure 3. Repair of uracil in DNA mediated by EndoQ.

研究发现,Pfu-EndoQ 与滑动夹 PCNA 蛋白相互作用<sup>[25]</sup>,这可能有助于将酶招募至复制叉,然后该酶切割损伤 DNA 产生的缺口被解旋酶、核酸内切酶 FEN1 (flap endonuclease 1)、DNA 聚合酶和 DNA 连接酶协同作用,从而完成修复。但是,目前相关的作用机理尚不清楚。

进一步的研究发现,源自极端嗜热古菌 *P. furiosus* 中的 EndoQ 和 EndoV 单独作用于损伤碱基的修复<sup>[23]</sup>,在损伤碱基的两侧形成两个切口(图 2)。然后,由 DNA 解旋酶、DNA 聚合酶和 DNA 连接酶完成修复<sup>[24]</sup>。

### 4 古菌核酸内切酶 XPF

XPF (xeroderma pigmentosum F) 是真核生物核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)体系的重要组成部分之一。除了 *Thermoplasmatales* 之外,所有的古菌均编码核酸内切酶 XPF 蛋白。根据门的不同,古菌包含不同的 XPF 同源物。属于

泉古菌门的极端嗜热古菌 *Sulfolobus solfataricus* 和 *Aeropyrum pernix* 具有相对短的 XPF 同源物, 其 C 末端含有与 PCNA 相互作用的结构域, 并且其切割活性依赖于 PCNA<sup>[26-27]</sup>。相反, 属于广古菌门的 *P. furiosus* 具有相对长的 XPF 同源物, 并且命名为 Hef (helicase associated endonuclease for forked structure, 作用于叉形结构核酸内切酶相关的解旋酶)<sup>[28]</sup>。 *P. furiosus* Hef 蛋白与 DEAH 解旋酶家族成员和 XPF/Mus81 核酸酶超家族成员具有序列相似性<sup>[28]</sup>。 Pfu-Hef 具有功能性的解旋酶活性, 在序列上位于 N 末端, 能够促进其核酸内切酶的活性<sup>[29]</sup>。 Pfu-Hef 蛋白 N 端的 ATP 水解酶和解旋酶活性以及 C 端的核酸内切酶活性, 相互协调作用于停滞的复制叉<sup>[29]</sup>。

对古菌 XPF 和 Hef 蛋白的结构域的分析表明, 其核酸酶区域由催化结构域和 HhH (Helix-hairpin-Helix) 结构域组成。它们在溶液中各自形成二聚体<sup>[30]</sup>。 Hef 蛋白的催化结构域显示, 它属于限制性核酸内切酶家族, 催化结构域和 HhH 结构域对于该蛋白的活性必不可少<sup>[30]</sup>。但是, 该蛋白如何识别分支 DNA 底物尚不清楚。古菌 XPF 的结构表明, DNA 底物主要被 HhH 结构域所结合, 其配对的区域被催化结构域所作用<sup>[31]</sup>。

## 5 古菌核酸内切酶 Hjc

Holliday 联结体切除酶专一性地作用于同源重组所形成的 DNA 嵌合体, 并切割产生重组的异源双链 DNA 分子。古菌中也编码同源重组途径中 Holliday 联结体切除酶。Komori 等首先在 *P. furiosus* 中发现 Holliday 联结体切除酶的基因, 并命名为 Hjc (Holliday junction cleavage)<sup>[32]</sup>。类似于 *E. coli* 中的 RuvC, 古菌 Hjc 参与了同源重组和双

链断裂修复途径。后来, Kvaratskhelia 等在 *S. solfataricus* 鉴定出 Holliday 联结体专一性核酸内切酶 Hje (holliday junction endonuclease)。研究发现, Sso-Hje 切割 Holliday 联结体无序列特异性, 偏好连续性地切割 DNA 嵌合体。尽管 Sso-Hjc 和 Sso-Hje 具有 28% 的氨基酸等同性, 但是两者切割 DNA 的模式不同<sup>[33]</sup>, 也具有不同的底物专一性<sup>[34]</sup>。 Sso-Hjc 通过其 C 末端的 PIP 结构域 (PCNA-interacting peptide) 与 PCNA 存在相互作用, 并且 PCNA 能够促进 Hjc 的活性<sup>[35]</sup>。 Sso-Hje 的晶体结构表明, 它具有灵活的 loop, 作用于联结体中心。在这个 loop 中, 高度保守的 Ser30 是该酶活性的关键残基<sup>[33]</sup>。

Hjc 在古菌中高度保守, 广泛存在于泉古菌和广古菌中。最新的研究表明, *S. islandicus* Hjc、Sis-PINA (*S. islandicus* PIN domain-containing ATPase)、Hjm (holliday junction migration) 蛋白三者相互作用, 共同作用于复制叉的倒退和 Holliday 联结体的形成与切割<sup>[36]</sup>。极端嗜热古菌 *Sulfolobus tokodaii* 的 Hjc 能够与 RadC2 蛋白相互作用, 共同参与同源重组<sup>[37]</sup>, 还能够抑制用于 Holliday 联结体分支迁移的 DNA 解旋酶的活性<sup>[38]</sup>。

Pfu-Hjc 的晶体结构表明该酶形成二聚体, 两个亚基的折叠完全不同于已报道的 Holliday 联结体切除酶<sup>[39]</sup>。 Pfu-Hjc 突变分析的结果表明该酶的 Phe68 和 Phe72 对于形成蛋白质二聚体至关重要, 而 Glu9、Arg10 和 Arg25 在酶的活性方面具有重要作用<sup>[40]</sup>。

## 6 总结和展望

极端嗜热古菌核酸内切酶是参与 DNA 修复的关键酶, 它不仅参与了 MMR, 而且参与了损伤

DNA 的修复,包括 AER、NER 和双链断裂的 DNA 修复。然而,极端嗜热古菌 DNA 修复核酸内切酶介导的 DNA 修复途径中的许多重要方面仍有待阐明。

极端嗜热古菌核酸内切酶 NucS, 是一个多功能酶, 能够切割错配 DNA 和叉形结构的单链 DNA。该酶切割错配会造成双链断裂的损伤(图 1), 对于细胞似乎是一种危险的策略, 除非同源重组非常有效。极端嗜热古菌基因组序列显示介导同源重组的 RadA 蛋白与 NucS 核酸内切酶共用一个启动子, 暗示着核酸内切酶 NucS 所产生的 DSB (double strand break)能够立刻被 RadA 所接管。RadA 与 NucS 是否存在相互作用共同完成损伤 DNA 或错配 DNA 的修复, 是值得探讨的问题。

极端嗜热古菌 EndoV 和 EndoQ 介导了 AER 途径修复损伤的 DNA。但是 EndoV 或 EndoQ 切除含有损伤碱基的 DNA 之后, 后续的修复机制尚不清楚, 值得进一步研究。

利用新的遗传学、生物物理学和分子生物学技术挖掘和研究古菌 DNA 复制和修复的酶学、途径和分子机理, 可以预期在不同的古菌中将会发现更多参与损伤 DNA 修复的核酸内切酶。

## 参考文献

- [1] Kelman Z, White MF. Archaeal DNA replication and repair. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8(6): 669–676.
- [2] Eme L, Spang A, Lombard J, Stairs CW, Etema TJG. Archaea and the origin of eukaryotes. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(12): 711–723.
- [3] Stetter KO. A brief history of the discovery of hyperthermophilic life. *Biochemical Society Transactions*, 2013, 41(1): 416–420.
- [4] Grogan DW. Hyperthermophiles and the problem of DNA instability. *Molecular Microbiology*, 1998, 28(6): 1043–1049.
- [5] Lindahl T, Nyberg B. Heat-induced deamination of cytosine residues in deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*, 1974, 13(16): 3405–3410.
- [6] Lindahl T, Nyberg B. Rate of depurination of native deoxyribonucleic acid. *Biochemistry*, 1972, 11(19): 3610–3618.
- [7] Palud A, Villani G, L'Haridon S, Querellou J, Raffin JP, Henneke G. Intrinsic properties of the two replicative DNA polymerases of *Pyrococcus abyssi* in replicating abasic sites: possible role in DNA damage tolerance? *Molecular Microbiology*, 2008, 70(3): 746–761.
- [8] Grogan DW, Carver GT, Drake JW. Genetic fidelity under harsh conditions: analysis of spontaneous mutation in the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus acidocaldarius*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(14): 7928–7933.
- [9] White MF, Allers T. DNA repair in the archaea—an emerging picture. *FEMS Microbiology Reviews*, 2018, 42(4): 514–526.
- [10] Grogan DW. Stability and repair of DNA in hyperthermophilic Archaea. *Current Issues in Molecular Biology*, 2004, 6(2): 137–144.
- [11] Ren B, Kühn J, Meslet-Cladiere L, Briffotiaux J, Norais C, Lavigne R, Flament D, Ladenstein R, Myllykallio H. Structure and function of a novel endonuclease acting on branched DNA substrates. *EMBO Journal*, 2009, 28(16): 2479–2489.
- [12] Ishino S, Nishi Y, Oda S, Uemori T, Sagara T, Takatsu N, Yamagami T, Shirai T, Ishino Y. Identification of a mismatch-specific endonuclease in hyperthermophilic Archaea. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44(7): 2977–2986.
- [13] Nakae S, Hijikata A, Tsuji T, Yonezawa K, Kouyama KI, Mayanagi K, Ishino S, Ishino Y, Shirai T. Structure of the EndoMS-DNA complex as mismatch restriction endonuclease. *Structure*, 2016, 24(11): 1960–1971.
- [14] Castañeda-García A, Prieto AI, Rodríguez-Beltrán J, Alonso N, Cantillon D, Costas C, Pérez-Lago L, Zegeye ED, Herranz M, Płociński P, Tonjum T, García de Viedma D, Paget M, Waddell SJ, Rojas AM, Doherty AJ, Blázquez J. A non-canonical mismatch repair pathway in prokaryotes. *Nature Communications*, 2017, 8: 14246.
- [15] Grasso S, Tell G. Base excision repair in Archaea: back to the future in DNA repair. *DNA Repair*, 2014, 21: 148–157.
- [16] Yasui A. Alternative excision repair pathways. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2013, 5(6): a012617.
- [17] Yao M, Hatahet Z, Melamede RJ, Kow YW. Purification and characterization of a novel deoxyinosine-specific enzyme, deoxyinosine 3' endonuclease, from *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, 269(23): 16260–16268.
- [18] Cao WG. Endonuclease V: an unusual enzyme for repair of DNA deamination. *Cellular and Molecular Life Sciences*,

- 2013, 70(17): 3145–3156.
- [19] Liu J, He B, Qing H, Kow YW. A deoxyinosine specific endonuclease from hyperthermophile, *Archaeoglobus fulgidus*: a homolog of *Escherichia coli* endonuclease V. *Mutation Research/DNA Repair*, 2000, 461(3): 169–177.
- [20] Kiyonari S, Egashira Y, Ishino S, Ishino Y. Biochemical characterization of endonuclease V from the hyperthermophilic archaeon, *Pyrococcus furiosus*. *The Journal of Biochemistry*, 2014, 155(5): 325–333.
- [21] Kanugula S, Pauly GT, Moschel RC, Pegg AE. A bifunctional DNA repair protein from *Ferroplasma acidarmanus* exhibits O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase and endonuclease V activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(10): 3617–3622.
- [22] Wang YX, Zhang LK, Zhu XY, Li YT, Shi HQ, Oger P, Yang ZH. Biochemical characterization of a thermostable endonuclease V from the hyperthermophilic euryarchaeon *Thermococcus barophilus* Ch5. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 117: 17–24.
- [23] Ishino S, Makita N, Shiraishi M, Yamagami T, Ishino Y. EndoQ and EndoV work individually for damaged DNA base repair in *Pyrococcus furiosus*. *Biochimie*, 2015, 118: 264–269.
- [24] Shiraishi M, Ishino S, Yamagami T, Egashira Y, Kiyonari S, Ishino Y. A novel endonuclease that may be responsible for damaged DNA base repair in *Pyrococcus furiosus*. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(5): 2853–2863.
- [25] Shiraishi M, Ishino S, Yoshida K, Yamagami T, Cann I, Ishino Y. PCNA is involved in the EndoQ-mediated DNA repair process in *Thermococcales*. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25532.
- [26] Roberts JA, Bell SD, White MF. An archaeal XPF repair endonuclease dependent on a heterotrimeric PCNA. *Molecular Microbiology*, 2003, 48(2): 361–371.
- [27] Nishino T, Komori K, Ishino Y, Morikawa K. Structural and functional analyses of an archaeal XPF/Rad1/Mus81 nuclease: asymmetric DNA binding and cleavage mechanisms. *Structure*, 2005, 13(8): 1183–1192.
- [28] Komori K, Fujikane R, Shinagawa H, Ishino Y. Novel endonuclease in Archaea cleaving DNA with various branched structure. *Genes & Genetic Systems*, 2002, 77(4): 227–241.
- [29] Komori K, Hidaka M, Horiuchi T, Fujikane R, Shinagawa H, Ishino Y. Cooperation of the N-terminal helicase and C-terminal endonuclease activities of Archaeal Hef protein in processing stalled replication forks. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(51): 53175–53185.
- [30] Nishino T, Komori K, Ishino Y, Morikawa K. X-ray and biochemical anatomy of an archaeal XPF/Rad1/Mus81 family nuclease: similarity between its endonuclease domain and restriction enzymes. *Structure*, 2003, 11(4): 445–457.
- [31] Newman M, Murray-Rust J, Lally J, Rudolf J, Fadden A, Knowles PP, White MF, McDonald NQ. Structure of an XPF endonuclease with and without DNA suggests a model for substrate recognition. *EMBO Journal*, 2005, 24(5): 895–905.
- [32] Komori K, Sakae S, Shinagawa H, Morikawa K, Ishino Y. A Holliday junction resolvase from *Pyrococcus furiosus*: functional similarity to *Escherichia coli* RuvC provides evidence for conserved mechanism of homologous recombination in Bacteria, Eukarya, and Archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(16): 8873–8878.
- [33] Middleton CL, Parker JL, Richard DJ, White MF, Bond CS. Substrate recognition and catalysis by the Holliday junction resolving enzyme Hje. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32(18): 5442–5451.
- [34] Kvaratskhelia M, White MF. Two Holliday junction resolving enzymes in *Sulfolobus solfataricus*. *Journal of Molecular Biology*, 2000, 297(4): 923–932.
- [35] Dorazi R, Parker JL, White MF. PCNA activates the Holliday junction endonuclease Hjc. *Journal of Molecular Biology*, 2006, 364(3): 243–247.
- [36] Zhai BY, DuPrez K, Han XY, Yuan ZL, Ahmad S, Xu C, Gu LC, Ni JF, Fan L, Shen YL. The archaeal ATPase PINA interacts with the helicase Hjm via its carboxyl terminal KH domain remodeling and processing replication fork and Holliday junction. *Nucleic Acids Research*, 2018, 46(13): 6627–6641.
- [37] Wang L, Sheng DH, Han WY, Huang B, Zhu SS, Ni JF, Li J, Shen YL. *Sulfolobus tokodaii* RadA paralog, stRadC2, is involved in DNA recombination via interaction with RadA and Hjc. *Science China Life Sciences*, 2012, 55(3): 261–267.
- [38] Li Z, Lu SH, Hou GH, Ma XQ, Sheng DH, Ni JF, Shen YL. Hjm/Hel308A DNA helicase from *Sulfolobus tokodaii* promotes replication fork regression and interacts with Hjc endonuclease *in vitro*. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(8): 3006–3017.
- [39] Nishino T, Komori K, Tsuchiya D, Ishino Y, Morikawa K. Crystal structure of the archaeal holliday junction resolvase Hjc and implications for DNA recognition. *Structure*, 2001, 9(3): 197–204.
- [40] Komori K, Sakae S, Daiyasu H, Toh H, Morikawa K, Shinagawa H, Ishino Y. Mutational analysis of the *Pyrococcus furiosus* holliday junction resolvase hjc revealed functionally important residues for dimer formation, junction DNA binding, and cleavage activities. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(51): 40385–40391.

# Research progress of hyperthermophilic archaeal DNA repair endonucleases

Yuting Li, Haoqiang Shi, Likui Zhang\*

Marine Science & Technology Institute, Department of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, Jiangsu Province, China

**Abstract:** Hyperthermophilic archaea are facing severe challenges due to their high temperature environment. Therefore, how to maintain genomic stability of hyperthermophilic archaea is one of the most important scientific questions in this field. Hyperthermophilic archaea have similar spontaneous mutation frequencies to mesophilic microorganisms, suggesting that they have a more efficient DNA repair system than mesophilic microorganisms to repair genomic DNA damage caused by high temperature. At present, the molecular mechanism of DNA repair of hyperthermophilic archaea is still unclear. Endonucleases play an important role in the DNA repair pathway. Genomic sequences show that hyperthermophilic archaea encode a few DNA repair endonucleases, however, the research on them is still in an early stage. In this paper, we reviewed the research progress of hyperthermophilic archaeal DNA repair endonucleases, including NucS, EndoV, EndoQ, XPF and Hjc. We also proposed future studies.

**Keywords:** hyperthermophilic archaea, endonuclease, DNA repair

(本文责编: 张晓丽)

---

Supported by the Academic Leader of Middle and Young People of Yangzhou University Grant and by the Practice Innovation Training Program for College Students in Jiangsu (201711117059Y)

\*Corresponding author. Tel: +86-514-89795882; E-mail: lkzhang@yzu.edu.cn

Received: 21 December 2018; Revised: 26 February 2019; Published online: 7 March 2019