

文章编号: 1004-0374(2010)05-0743-06

人乳头状瘤病毒复制机制的研究进展

吕涛, 马正海*

(新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830046)

摘要: 人乳头状瘤病毒(human papillomavirus, HPV) DNA以游离和整合两种形式存在于感染细胞中。游离形式HPVs的复制依赖于上皮细胞的分化, 病毒E1、E2蛋白和复制起始位点(origin, Ori)为复制必需元件, E1和E2蛋白与Ori结合起始病毒DNA的复制。随后, 病毒DNA通过E2蛋白与Brd4 (bromodomain-containing protein 4)等细胞蛋白的互动而与染色体结合, 并随细胞分裂平均分配到子代细胞中。在肿瘤中, 高危型HPVs的基因组通常以整合形式存在, 并随细胞的增殖而复制。

关键词: 人乳头状瘤病毒; 复制; E1; E2; 复制起始位点

中图分类号: R373

文献标识码: A

Research progress on replication mechanism of human papillomavirus

LV Tao, MA Zheng-hai*

(Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumchi 830046, China)

Abstract: Human papillomavirus DNAs exist in infected cells as episomal or integrated forms. The replication of episomal HPVs is closely linked to the differentiation of the host epithelial cells, and requires viral E1, E2, and origin (Ori). The binding of the E1 and E2 protein to the Ori triggers the initiation of replication, then the episomal viral genomes are tethered to mitotic chromosomes by E2 protein interaction with Brd4 or other cellular proteins, and segregated to daughter cells equitably. The viral DNAs of high-risk HPVs are often found integrated into the host chromosomes in tumor, and replicated along with the cells proliferation.

Key words: human papillomavirus; replication; E1; E2; replication origin

人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)为无包膜的小型双链环状DNA病毒, 可引起皮肤和黏膜的良性和恶性肿瘤。HPV基因组全长约7 900 bp, 分为早期区(E区)、晚期区(L区)和上游调控区(upstream regulatory region, URR), E区编码具有转化活性以及调控病毒复制和基因表达的蛋白, L区编码病毒衣壳蛋白, URR区包含病毒DNA复制起点(replication origin, Ori)和调控病毒基因转录的多个顺式作用元件。尽管各型HPV的致癌潜能各不相同, 但复制机制和增殖周期基本相同。HPV以人为单一宿主, 具有明显的种属特异性, 且HPV病毒体仅存在于终末分化的上皮组织中, 含量很少, 很难在体外培养的细胞中增殖, 这也阻碍了HPV基础研究和疫苗研制。

HPV通过破损的皮肤和黏膜进入上皮基底层, 病毒DNA侵入细胞核后随细胞DNA复制而复制, 起初, 病毒呈潜伏状态, 上皮细胞不出现病变, 故分裂的基底细胞可能是病毒DNA的储存处; 随后, 潜伏的HPV可被激活, 病毒基因组整合到感染细胞的基因组中, 并导致细胞病变。在HPV感染过程中, 病毒的复制和增殖与上皮细胞的分化状态紧密相关^[1], 并受URR区Ori以及E区编码的E1和E2蛋白的调控。E1和E2蛋白与URR特定序列的结合促使了DNA聚合酶等DNA复制相关蛋白与病毒Ori结合, 病毒DNA得以复制。本文从HPV增殖周期、

收稿日期: 2010-01-25; 修回日期: 2010-03-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30460008)

*通讯作者: E-mail: mzhxju@126.com

HPV 体外增殖体系的建立、HPV 复制必需元件的结构与功能以及 HPV 基因组在感染细胞中的维持等方面对 HPV 复制机制作一综述。

1 人乳头状瘤病毒增殖周期

HPV 复制周期的完成与上皮细胞的分化密切相关

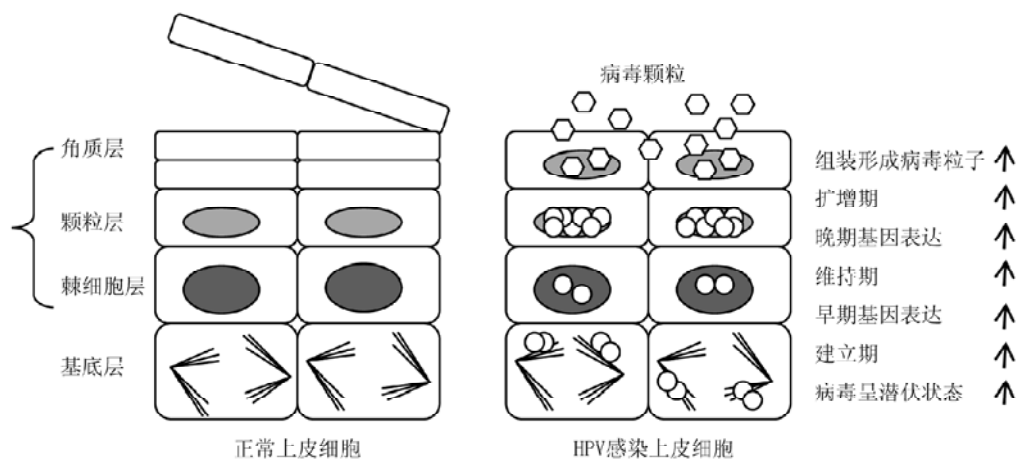


图1 HPV增殖与上皮细胞分化的相互关系

左图显示正常上皮细胞分化过程；右图显示 HPV 随上皮细胞分化依次进入建立期、维持期和扩增期

间，随后，病毒粒子与细胞表面的受体结合并进入细胞核。目前，HPV 进入细胞所需的特异性受体尚不确定，HPV 最初可进入包括上皮细胞和成纤维细胞在内的多种细胞，其可能通过相同的受体进入细胞，Joyce 等^[2]发现 HPV-11 L1 的 C-末端能和硫酸肝磷脂 (heparin sulfate) 相互作用，并促使病毒吸附于细胞表面，推测其可能是介导病毒进入细胞的受体。在维持期，病毒基因组仍以游离的质粒形式存在于基底层细胞中，并维持在 $20 \sim 100$ 个拷贝^[3]；之后，病毒基因组开始复制，并随着细胞的分裂而进入子代细胞，病毒基因组在基底层细胞进入 S 期时进行复制，该过程需要 E1 和 E2 蛋白及细胞复制蛋白的参与。随着 HPV 基因组的复制和细胞的分裂，一些细胞离开基底层并开始分化，未被 HPV 感染的基底层细胞在分化为角质细胞后即停止分裂，细胞核也逐步退化；而 HPV 感染的细胞在分化的同时仍然保持分裂和增殖活性，并促使病毒 DNA 复制，使每个细胞中病毒基因组的拷贝数达到并维持在几百，甚至几千拷贝。研究证实，HPV 感染的细胞继续分裂增殖依赖于上皮细胞分化，HPV 基因组复制与其晚期启动子的活性密切相关，大量表达的 E1-E4 和 E5 在病毒增殖周期晚期发挥着重要的调节

作用，病毒通过感染上皮基底层细胞起始复制，并随感染细胞的分化而增殖，其复制周期包括建立期 (establishment)、维持期 (maintenance) 和扩增期 (amplification) (图1)。

在感染初期(即建立期)，HPV 通过破损的皮肤和黏膜进入机体，潜伏于表皮细胞和基底层细胞

作用^[4]，L 区编码的衣壳蛋白 L1 和 L2 可组装形成感染性的病毒颗粒^[5]。

2 HPV 体外增殖体系的建立

HPV 体外增殖体系的建立是研究复制和增殖的基础。1975 年，Rheinwald 和 Green^[6]报道了促使角质上皮细胞形成鳞状复层上皮的细胞培养方法，在随后的研究中逐步确立的 HPV 体外增殖体系主要有悬浮细胞培养和筏式器官培养 (organotypic raft culture system)。悬浮细胞培养体系是将细胞悬浮培养于含 1.6% 甲基纤维素的培养基中，培养细胞在 48 h 内将逐步分化，从而促使病毒增殖，但病毒增殖和感染并未使细胞产生可见的病理变化。1984 年，Asselineau 和 Prunieras^[7]建立了筏式器官培养技术，首先将未分化的上皮细胞层叠于混合有胶原质的成纤维细胞上培养，继而将上述细胞 (包括上皮细胞和成纤维细胞) 转至气-液交界处的金属网格上培养，处于气-液交界处的细胞可通过胶原质获得营养成分，经 2 周左右，上皮细胞开始分化和层化，若分化细胞为 HPV 感染的细胞，则病毒会随细胞的分化而增殖，并导致细胞发生病理变化。目前，这一方法已用于多种型别 HPV 体外增殖研究^[8,9]。

随着基因操作技术的成熟,研究者们开始利用各种载体将携带的HPV基因组导入相应宿主细胞,以期建立更为高效的HPV体外增殖体系。1991年,Brandsma等^[10]第一次利用基因重组技术将棉尾兔乳头状瘤病毒(cottontailrabbitpapillomavirus,CRPV)DNA导入兔上皮细胞。1996年,Frattini等^[11]将HPV-31基因组克隆至pBR322质粒载体,使其在大肠杆菌中扩增,之后切除质粒DNA部分,将释放出的线性化HPV基因组再次环化,并将环化的HPV基因组和新霉素抗性质粒共转染角质细胞,通过新霉素抗性筛选获得含游离HPV基因组的细胞系,该细胞系可用于HPV增殖和基因表达等方面的研究。目前,利用这一技术已建立了分别含不同型别HPV基因组的细胞系^[12,13],促进了HPV体外增殖的研究。近来,有研究者用腺病毒^[14,15]和痘病毒^[16]等病毒载体介导HPV在体外培养细胞中的增殖,以借助病毒载体的快速增殖扩增HPV。目前,我们也在尝试将HPV-16基因组重组至人I型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus type I, HSV-I)载体,以期借HSV-1的增殖带动HPV-16的增殖。

3 HPV复制必需元件的结构及其功能

在HPV的复制中,E1、E2和Ori是复制所必需的。E1蛋白在E2蛋白的辅助下与Ori中的相应元件结合形成前起始复合物E1-E2-origin,继而起始DNA的复制。

3.1 Ori的结构及其功能

Ori是一个保守结构,位于URR和早期基因开放阅读框之间,约100 bp。Ori含有三种复制必需的元件:E2蛋白结合位点(E2 binding site, E2 BS)、E1蛋白结合位点(E1 binding site, E1 BS)和其他顺式作用元件(图2)。

3.1.1 E2蛋白结合位点

E2蛋白结合位点高度保守,可特异性地与E2蛋白DNA结合域(E2 DNA binding domain, E2 DBD)结合,在复制起始时发挥重要作用。在不同型别HPV的URR中,E2 BS的个数和位置并不固定,多数型别有三个高亲和力的E2 BS,分别为E2 BS#1、E2 BS#2和E2 BS#3。如图2所示,在Ori两端各

有一个E2 BS, E2 BS#1的3'端与TATA box相连,E2 BS#2的5'端与Sp1结合位点相连;E1 BS位于两个E2 BS之间;两个A/T富集区分别紧邻E2 BS#2和E2 BS#3;E2 BS#3与E2 BS#2之间相隔64 bp,E2 BS#2与E2 BS#1之间相差3 bp^[17,18]。

3.1.2 E1蛋白结合位点

E1结合位点(E1 binding site, E1 BS)特异性地与E1蛋白DNA结合域(E1 DNA binding domain, E1 DBD)结合,其在复制起始中的作用不明显。以HPV-11为例,HPV-11的E1蛋白与E1 BS结合的亲和力不高^[19];HPV-11在仅有E2 BS的情况下,E1蛋白可通过与E2蛋白的相互作用到达复制起始位点^[20]。

3.1.3 其他元件

HPV Ori包含的A/T富含区、嘌呤富含区和TATA Box等元件也可在一定程度上促进HPV的复制^[21]。

3.2 HPV复制过程中E1蛋白的作用及其调控

E1蛋白是由605~650个氨基酸组成的复制起始蛋白,相对分子质量约68 k,具有ATP酶和3'-5'解旋酶活性,可使双链DNA解链。在起始DNA复制过程中,HPV E1蛋白首先与DNA聚合酶 α 相互作用,然后再和E2蛋白结合形成前起始复合物,从而起始病毒DNA复制^[22]。研究表明,直接与HPV E1蛋白结合的是DNA聚合酶的p70亚基和p180催化亚基,其中p70亚基与E1蛋白充分结合^[23]。还有研究表明,HPV-11 E1蛋白C-末端与E2蛋白特异性结合,在复制中起重要作用^[24]。G1/S期,在伴侣分子Hsp40和Hsp70的协助下,E2蛋白从起始复合物中释放,E1蛋白发挥解旋酶活性,解开DNA双链。然而,Chattopadhyay等^[25]认为E1蛋白并非HPV DNA复制必需,他们在缺失E1而保留E2的情况下发现,在LCR和L1之间有一段约450 bp的片段可促使游离形式的HPV-1在酵母中复制。

E1蛋白在HPV DNA复制中的作用还受到多种因子的调控。研究发现,PIAS [protein inhibitor of activated STAT (signal transducers and activators of transcription)]可对E1蛋白进行类泛素化(sumoylation)修饰而增强E1蛋白的解旋酶活性,继而促进乳头状瘤病毒的复制和感染^[26];泛素结合酶9 (ubiquitin-conjugating enzyme, Ubc9)可与低聚化的HPV-11 E1蛋



图2 人乳头状瘤病毒复制起始位点结构示意图

白相互作用促进病毒DNA的复制^[27]。Deng等^[24]发现,CDK(cyclin-dependent kinases)可磷酸化E1蛋白并促使其输出核外,从而促进HPV DNA的复制;另有研究证实,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases,MAPKs)也可通过激活HPV-11 E1蛋白核定位序列(nuclear localization sequence,NLS)促使HPV输出细胞核,从而促进病毒的复制^[25]。Narahari等^[3]的研究发现,CCAAT置换蛋白(CCAAT displacement protein,CDP)可与E1 BS、TATA盒结合,从而阻止了E1蛋白与E1 BS结合以及复制起始复合物的形成,抑制病毒DNA复制;而E2蛋白能抑制CDP和E1 BS的结合,从而提高E1与E1 BS的结合,促进病毒DNA复制。Lace等^[30]发现HPV-16 E8⁺E2表达产物可抑制E1基因表达和HPV-16的复制。

3.3 HPV复制过程中E2蛋白的作用及其调控

E2蛋白在病毒DNA复制和转录调控中都起着重要的作用。E2蛋白以同型二聚体的形式存在,相对分子质量约50 k;C-末端为DNA结合域,可使DNA弯曲;N-末端由富含谷氨酸的 α 螺旋组成,在调控病毒复制中起着重要作用。E2蛋白在病毒DNA复制中的作用见图3,E2蛋白协助并促进E1蛋白与复制起始位点结合形成高特异性E1/E2前起始复合物,起始DNA的复制;一旦病毒DNA复制进入延伸阶段,E2蛋白从起始复合物中释放,转为低特异性的E1复合物,E1发挥解旋酶活性并促使病毒DNA复制。

如同E1蛋白在HPV DNA复制中的作用,E2蛋白在HPV DNA复制中的作用也受到各种因素的调控。如转录因子结合位点YY1 BS^[31]和TATA box^[32]可与E2 BS竞争性地结合E2蛋白,从而干扰了E2蛋白与Ori的结合以及HPV DNA复制。研究表明,一些小分子物质可通过与HPV-11 E2 N-末端转录激

活域(transactivation domain,TAD)结合抑制E2与E1结合,从而抑制病毒DNA复制^[33]。B段紫外线(UVB)照射可缩短HPV-16和HPV-18 E2蛋白的半衰期,从而降低E2蛋白的活性,抑制病毒DNA复制^[34]。E1⁺E4与E2蛋白N-末端的结合可使E2转变为更稳定的蛋白,并促使E2蛋白从核内输送到细胞质,促进病毒DNA的复制^[35]。

4 HPV基因组在感染细胞中的维持

不同型别HPV感染细胞后,在维持期和增殖期其基因组均维持在一定的拷贝数,这与HPV持续感染密切相关。目前的研究表明,HPV基因组通过两种机制维持其在感染细胞中的拷贝数,一种机制为规则的S期单次复制模式(ordered once-per-S-phase manner),即每当细胞分裂至S期,HPV基因组复制一次,病毒DNA随细胞DNA复制而复制,HPV-16在W12细胞中即以这种方式维持病毒DNA的拷贝数。另一种方式称为随机选择复制模式(random-choice mechanism),即HPV基因组在细胞中的复制带有随机性,病毒DNA在细胞进入S期时,在一些细胞中复制多次,在一些细胞中复制一次,而在另一些细胞中并不复制,HPV-31即是以这一方式维持病毒在细胞中的拷贝数。

对于游离形式HPV基因组的维持而言,新合成的DNA必须分配到子代细胞中。研究表明,E2蛋白能将新合成的HPV基因组分配到有丝分裂期的染色体或纺锤体上,进而促使病毒DNA分配到子代细胞中^[36]。在有丝分裂期,Brd4可与其特异性结合位点(ACCGN4CGGT)结合,继而与E2蛋白N-末端相互作用,将病毒基因组束缚在染色体上并促进病毒的复制和持续感染,该机制最早在BPV-1中发现^[37]。但另一些研究发现,E2的一些突变体不与Brd4结合,其激活病毒基因转录表达的活性受到影响,但

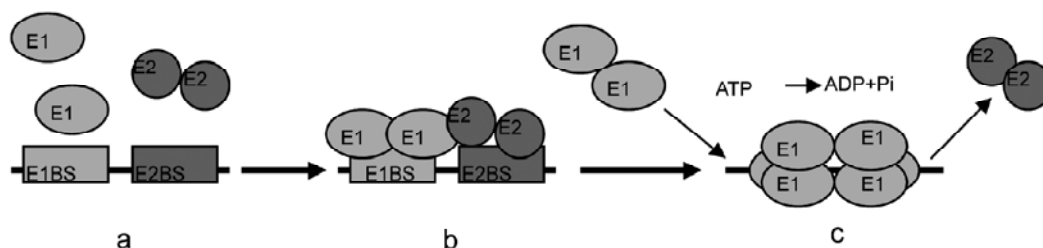


图3 E1和E2蛋白与Ori结合的示意图

a: E1和E2蛋白分别与HPV Ori中的E1 BS和E2 BS结合; b: 形成高度特异性的E1/E2前起始复合物; c: E2蛋白释放,复合物转为低特异性的E1复合物,DNA复制进入延伸阶段,此过程需要水解ATP以提供能量

HPV基因组仍然能够与有丝分裂期的染色体结合并分配到子代细胞,并推测不是所有型别HPV的基因组与细胞染色体的结合都依赖E2蛋白与Brd4的相互作用,可能其他细胞蛋白可替代Brd4与E2蛋白结合并促使病毒基因组在感染细胞中的维持^[38,39]。另外,Stubenrauch等^[40]发现HPV-31的E8[^]E2C抑制了病毒复制,在控制游离病毒DNA拷贝数中发挥了重要作用;Lace等^[30]也报道了HPV-16 E8[^]E2对病毒基因组拷贝数有限制作用。

在高级别鳞状上皮内病变(high grade squamous intraepithelial lesions, HSILs)和宫颈癌组织中,高危型HPVs通常整合入细胞基因组中。对病毒DNA而言,整合会导致一段病毒DNA的断裂或缺失,其中病毒复制相关的E2和E1编码基因常发生断裂和缺失,继而关闭E2和E1基因并激活病毒转化基因E6和E7^[41],最终导致HPV感染细胞的永生,整合的HPV基因组即可随细胞的增殖而复制。Kadaja等^[42]的研究表明,当整合位点发生在HPV Ori时,病毒基因组可依靠E2和E1蛋白的作用而大量复制,继而诱导病毒基因组的切除、重排和再次整合。

5 小结

近年来,HPV复制机制的研究取得了一系列进展,这也为寻找HPV特异性的抗病毒药物提供了新的思路。由于E1和E2蛋白参与病毒DNA复制的起始,其已成为抗HPV药物研究的靶标,一些小分子可干扰E1和E2蛋白间的相互作用,从而阻断或抑制病毒复制,有望开发为抗HPV药物,其有效性尚待临床试验确定。另外,HPV在酵母细胞中的复制以及上皮细胞分化相关蛋白对病毒复制的影响也取得了一系列的研究进展,为进一步阐明HPV复制机制奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, 68(2): 362-72
- [2] Joyce JG, Tung JS, Przysiecki CT, et al. The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem*, 1999, 274(9): 5810-22
- [3] Narahari J, Fisk JC, Melendy T, et al. Interactions of the cellular CCAAT displacement protein and human papillomavirus E2 protein with the viral origin of replication can regulate DNA replication. *Virology*, 2006, 350(2): 302-11
- [4] Hummel M, Hudson JB, Laimins LA. Differentiation-induced and constitutive transcription of human papillomavirus type 31b in cell lines containing viral episomes. *J Virol*, 1992, 66(10): 6070-80
- [5] Frattini MG, Lim HB, Laimins LA. *In vitro* synthesis of oncogenic human papillomaviruses requires episomal genomes for differentiation-dependent late expression. *Microbiology*, 1996, 93(7): 3062-7
- [6] Rheinwald JG, Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. *Cell*, 1975, 6(3): 331-43
- [7] Asselineau D, Prunieras M. Reconstruction of 'simplified' skin: control of fabrication. *Br J Dermatol*, 1984, 111(Suppl 27): 219-22
- [8] Meyers C, Mayer TJ, Ozburn MA. Synthesis of infectious human papillomavirus type 18 in differentiating epithelium transfected with viral DNA. *J Virol*, 1997, 71(10): 7381-6
- [9] Song H, Moseley PL, Lowe SL, et al. Inducible heat shock protein 70 enhances HPV31 viral genome replication and virion production during the differentiation-dependent life cycle in human keratinocytes. *Virus Res*, 2010, 147(1): 113-22
- [10] Brandsma JL, Yang ZH, Barthold SW, et al. Use of a rapid, efficient inoculation method to induce papillomas by cottontail rabbit papillomavirus DNA shows that the E7 gene is required. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(11): 4816-20
- [11] Frattini MG, Lim HB, Laimins LA. *In vitro* synthesis of oncogenic human papillomaviruses requires episomal genomes for differentiation-dependent late expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(7): 3062-7
- [12] Oh ST, Longworth MS, Laimins LA. Roles of the E6 and E7 proteins in the life cycle of low-risk human papillomavirus type 11. *J Virol*, 2004, 78(5): 2620-6
- [13] Flores ER, Allen-Hoffmann BL, Lee D, et al. Establishment of the human papillomavirus type 16 (HPV-16) life cycle in an immortalized human foreskin keratinocyte cell line. *Virology*, 1999, 262(2): 344-54
- [14] Somberg M, Rush M, Fay J, et al. Adenovirus E4 or f4 induces HPV-16 late L1 mRNA production. *Virology*, 2009, 383(2): 279-90
- [15] Berg M, Gambhira R, Siracusa M, et al. HPV16 L1 capsid protein expressed from viable adenovirus recombinants elicits neutralizing antibody in mice. *Vaccine*, 2007, 25(17): 3501-10
- [16] Han HD, Song CK, Park YS, et al. A chitosan hydrogel-based cancer drug delivery system exhibits synergistic anti-tumor effects by combining with a vaccinia viral vaccine. *Int J Pharm*, 2008, 350(1-2): 27-34
- [17] Sim J, Olgur S, Lin BY, et al. Remodeling of the human papillomavirus type 11 replication origin into discrete nucleoprotein particles and looped structures by the E2 protein. *J Mol Biol*, 2008, 375(4): 1165-77
- [18] Sun YN, Lu JZ, Mccance DJ. Mapping of HPV-11 E1 binding site and determination of other important cis elements for replication of the origin. *Virology*, 1996, 216(1): 219-22
- [19] Dixon EP, Pahel GL, Rocque WJ, et al. The E1 helicase of human papillomavirus type 11 binds to the origin of replication with low sequence specificity. *Virology*, 2000, 270(2):

- 345-57
- [20] Lu JZ, Sun YN, Rose RC, et al. Two E2 binding sites (E2BS) alone or one E2BS plus an A/T-rich region are minimal requirements for the replication of the human papillomavirus type 11 origin. *J Virol*, 1993, 67(12): 7131-9
- [21] Russel J, Botchan MR. Cis-acting components of human papillomavirus (HPV) DNA replication: linker substitution analysis of the HPV type 11 origin. *J Virol*, 1995, 69(2): 651-60
- [22] Amin AA, Titolo S, Pelletier A, et al. Identification of domains of the HPV11 E1 protein required for DNA replication *in vitro*. *Virology*, 2000, 272(1): 137-50
- [23] Conger KL, Liu JS, Kuo SR, et al. Human papillomavirus DNA replication. interactions between the viral E1 protein and two subunits of human and polymerase α /primase. *J Biol Chem*, 1999, 274(5): 2696-705
- [24] Sun Y, Han H, McCance DJ. Active domains of human papillomavirus type 11 E1 protein for origin replication. *J Gen Virol*, 1998, 79(7): 1651-8
- [25] Chattopadhyay A, Schmidt MC, Khan SA. Identification of a 450-bp region of human papillomavirus type 1 that promotes episomal replication in *Saccharomyces cerevisiae*. *Virology*, 2005, 340(1): 133-42
- [26] Rosas-Acosta G, Langereis MA, Deyrieux A, et al. Proteins of the PIAS family enhance the sumoylation of the papillomavirus E1 protein. *Virology*, 2005, 331(1): 190-203
- [27] Fradet-Turcotte A, Brault K, Titolo S, et al. Characterization of papillomavirus E1 helicase mutants defective for interaction with the SUMO-conjugating enzyme Ubc9. *Virology*, 2009, 395(2): 190-201
- [28] Deng W, Lin BY, Jin G, et al. Cyclin/CDK regulates the nucleocytoplasmic localization of the human papillomavirus E1 DNA helicase. *J Virol*, 2004, 78(24): 13954-65
- [29] Yu JH, Lin BY, Deng WT, et al. Mitogen-activated protein kinases activate the nuclear localization sequence of human papillomavirus type 11 E1 DNA helicase to promote efficient nuclear import. *J Virol*, 2007, 81(10): 5066-78
- [30] Lace MJ, Anson JR, Thomas GS, et al. The E8^{E2} gene product of human papillomavirus type 16 represses early transcription and replication but is dispensable for viral plasmid persistence in keratinocytes. *J Virol*, 2008, 82(21): 10841-53
- [31] Lee KY, Broker TR, Chow LT. Transcription factor γ 1 represses cell-free replication from human papillomavirus origins. *J Virol*, 1998, 72(6): 4911-7
- [32] Hartley KA, Alexander KA. Human TATA binding protein inhibits human papillomavirus type 11 DNA replication by antagonizing e1-e2 protein complex formation on the viral origin of replication. *J Virol*, 2002, 76(10): 5014-23
- [33] Wang Y, Coulombe R, Cameron DR, et al. Crystal structure of the E2 transactivation domain of human papillomavirus type 11 bound to a protein interaction inhibitor. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 6976-85
- [34] Taylor ER, Boner W, Dornan ES, et al. UVB irradiation reduces the half-life and transactivation potential of the human papillomavirus 16 E2 protein. *Oncogene*, 2003, 22(29): 4469-77
- [35] Davy C, McIntosh P, Jackson DJ, et al. A novel interaction between the human papillomavirus type 16 E2 and E1^{E4} proteins leads to stabilization of E2. *Virology*, 2009, 394(2): 266-75
- [36] Dao LD, Duffy A, Van Tine BV, et al. Dynamic localization of the human papillomavirus type 11 origin binding protein e2 through mitosis while in association with the spindle apparatus. *J Virol*, 2006, 80(10): 4792-800
- [37] Baxter MK, McPhillips MG, Ozato K, et al. The mitotic chromosome binding activity of the papillomavirus e2 protein correlates with interaction with the cellular chromosomal protein, Brd4. *J Virol*, 2005, 79(8): 4806-18
- [38] Sénéchal H, Poirier GG, Coulombe B, et al. Amino acid substitutions that specifically impair the transcriptional activity of papillomavirus E2 affect binding to the long isoform of Brd4. *Virology*, 2007, 358(1): 10-7
- [39] McPhillips MG, Oliveira JG, Spindler JE, et al. Brd4 is required for e2-mediated transcriptional activation but not genome partitioning of all papillomaviruses. *J Virol*, 2006, 80(19): 9530-43
- [40] Stubenrauch F, Hummel M, Iftner T, et al. The E8E2C protein, a negative regulator of viral transcription and replication, is required for extrachromosomal maintenance of human papillomavirus type 31 in keratinocytes. *J Virol*, 2000, 74(3): 1178-86
- [41] Peter M, Rosty C, Couturier J, et al. MYC activation associated with the integration of HPV DNA at the MYC locus in genital tumors. *Oncogene*, 2006, 25(44): 5985-93
- [42] Kadaja M, Sumerina A, Verst T, et al. Genomic instability of the host cell induced by the human papillomavirus replication machinery. *EMBO J*, 2007, 26(8): 2180-91