

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Sandra Žáčková**

Role buněčných chaperonů Hsp70 a Hsp90 v životním cyklu virů s DNA  
genomy

Role of molecular chaperones Hsp70 and Hsp90 in the replication cycle of DNA  
viruses

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Lenka Horníková, Ph.D.

Praha, 2018

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 9. 5. 2018

.....  
Sandra Žáčková

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala své školitelce RNDr. Lence Horníkové, Ph.D. za trpělivost, cenné rady a vstřícnost při konzultacích. Dále děkuji P. K. Bystřickému za pomoc s formálními náležitostmi této práce a své rodině za podporu nejen při studiu.

## **Abstrakt**

Molekulární chaperony jsou proteiny, které umožňují jiným proteinům zaujmout nativní konformaci a jsou esenciální pro přežívání buněk. Chaperony z rodiny Hsp70 váží nově vznikající a stresem denaturované proteiny, zabraňují jejich agregaci a umožňují jim zaujmout správnou konformaci. Účastní se skládání i rozkládání oligomerů a podílí se na transportu proteinů přes membrány. Chaperony z rodiny Hsp90 se na rozdíl od Hsp70 neúčastní sbalování nově vznikajících a denaturovaných proteinů. Váží proteiny, které se nachází v téměř nativní konformaci a umožňují jim zaujmout konformace charakteristické pro vazbu ligandu či interakci s dalšími proteiny.

Tyto vlastnosti předurčují chaperony k využití v průběhu replikačního cyklu virů s DNA genomy. Při virové infekci je translatováno velké množství proteinů, které vyžadují asistenci chaperonů pro zaujetí správné konformace a skládání do oligomerních a makromolekulárních struktur. Chaperony se kromě skládání částic také účastní transportu genetické informace do míst replikace, rozvolňování částice nebo se přímo podílí na replikaci virové DNA. Proto vývoj specifických inhibitorů proti chaperonům slibuje možnost využití proti širokému spektru virových infekcí bez rizika vzniku rezistence a mohl by být i vítaným řešením v případě vypuknutí infekcí způsobených novými, doposud nepopsanými viry.

**Klíčová slova:** chaperony, Hsp70, Hsp90, DNA viry, replikace, protein-proteinové interakce

## **Abstract**

Molecular chaperones are proteins which enable other proteins to assemble into native conformation and are essential for viability of the cells. Chaperones of the Hsp70 family bind to newly synthesized and denatured proteins, prevent their aggregation and facilitate their assembly. They participate in assembly and disassembly of oligomers and also in the transport across the membranes. Chaperones of the Hsp90 family do not participate in the assembly of nascent or denatured proteins. They bind proteins which are nearly in native conformation and enable them to assemble into conformation suitable for ligand binding or interacting with other proteins.

These attributes predestinate chaperones to participate in the replication cycle of DNA viruses. A huge amount of proteins is translated during viral infection. These proteins require the chaperones to facilitate their assembly and are also required for assembly into oligomers and macromolecular structures. In addition to capsid assembly the chaperones also participate in transport of genetic information to the sites of replication, disassembly of incoming viral particles or replication of viral DNA. Therefore, the development of specific chaperone inhibitors is a promising approach. They could be used against broad spectrum of viral infections without the risk of resistance development. Application against infections caused by new, yet undescribed viruses, might be another important use of such inhibitors.

**Key words:** chaperones, Hsp70, Hsp90, DNA viruses, replication, protein-protein interactions

## Seznam zkratek

ATF6	transkripční aktivátor aktivovaný při UPR
BAG	eukaryotický cytoplazmatický nukleotidový výměnný faktor
BALF5	katalytická podjednotka polymerázy EBV
BAP	eukaryotický nukleotidový výměnný faktor v endoplazmatickém retikulu
BiP	homolog Hsp70 v endoplazmatickém retikulu, další názvy: HSPA5, GRP78
BKV	lidský BK virus
BMRF1	podjednotka polymerázy EBV obsahující jaderný lokalizační signál
BPV	kravský papilomavirus
CAD	"cytosol anchorage determinant", nachází se na pre-S doméně L proteinu a brání translokaci z cytoplazmy do ER
CTD	C-terminální doména Hsp90
DnaJ	prokaryotické homology kochaperonů Hsp70 z rodiny Hsp40
DNAJB	luminální či membránové endoplazmatické proteiny z rodiny Hsp40, další název: ERdj
DnaK	prokaryotický homolog Hsp70
E1,E2	papilomavirové proteiny nutné pro vytvoření preiniciačního komplexu
EBV	virus Epstein-Barrové
eIF2 $\alpha$	eukaryotický iniciační faktor 2
ER	endoplazmatické retikulum
ERAD	dráha degradace proteinů spojená s endoplazmatickým retikulem
gB	cytomegalovirový glykoprotein
GRP170	eukaryotický nukleotidový výměnný faktor v endoplazmatickém retikulu
GRP75	mitochondriální homolog Hsp70, další názvy: HSPA9
GRP94	homolog Hsp90 v endoplazmatickém retikulu
GrpE	eukaryotický mitochondriální nukleotidový výměnný faktor
HCMV	lidský cytomegalovirus
Hip	stabilizátor vazby substrátu k Hsp70
Hop	adaptorový protein pro interakci Hsp90 a Hsp70

HPV	lidský papilomavirus
Hsc70	konstitutivně exprimovaná forma Hsp70, další názvy: HSPA8
Hsp	proteiny tepelného šoku
Hsp40	eukaryotické kochaperony Hsp70, další názvy: Hdj2
Hsp70	stresem indukovatelná formy Hsp70, další názvy: HSPA1A, HSPA1B, Hsp70i
Hsp90 $\alpha$	stresem indukovatelný cytoplazmatický Hsp90, další název: Hsp82
Hsp90 $\beta$	konstitutivně exprimovaný cytoplazmatický Hsp90, další název: Hsc82
HSPB1	eukaryotický cytoplazmatický nukleotidový výměnný faktor
HSV-1	Herpes simplex virus typu 1
HSV-2	Herpes simplex virus typu 2
ICP0	bezprostředně časný protein Herpesvirů, podílí se na tvorbě VICE
ICP22	bezprostředně časný protein Herpesvirů, podílí se na tvorbě VICE
ICP27	bezprostředně časný protein Herpesvirů, podílí se na tvorbě VICE
ICP4	bezprostředně časný protein Herpesvirů
ICP5	kapsidový protein Herpesvirů
IRE1	kináza s RNázovou aktivitou aktivovaná při UPR
IRES	"internal ribosome entry sites", vnitřní místo pro vstup ribozomu
JCV	lidský JC virus
L1	hlavní kapsidový protein Papilomavirů
L2	minoritní kapsidový protein Papilomavirů
LAPs	proteiny asociované s latencí
MD	střední doména Hsp90
MIE	hlavní bezprostředně časné proteiny
MPyV	Myší polyomavirus
NEF	nukleotidový výměnný faktor
NTD	N-terminální doména Hsp90
ORF29p	s latencí asociovaný protein Herpesvirů
ori	replikační počátek
P*	aktivovaná reverzní transkriptáza Hepadnavirů

PDI	proteinová disulfid izomeráza
PERK	kináza aktivovaná při UPR
pgRNA	pregenomová RNA Hepadnavirů, další název: $\epsilon$ RNA
PML	promyelotická leukemická tělíska, místa replikace DNA a morfogeneze virionů Papilomavirů
PPI	peptidylprolyl- <i>cis/trans</i> -izomerázami
PyV	Polyomavirus
RL	retikulocytový lyzát
ROS	oxidativní stres
RTCs	replikační/transkripční kompartmenty Herpesvirů
SGTA	"small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein $\alpha$ ", interakční partner Hsc70 a Hsp105
SV40	Simian virus 40
TPR	tetratrikopeptidová repetice
TRAP1	mitochondriální homolog Hsp90
UL30	polymeráza Herpes simplex virů
UL6	portálový protein Herpesvirů
UPR	signální dráha spjatá se stresem endoplazmatického retikula
VICE	foci bohaté na chaperony uvnitř RTCs Herpesvirů
VLPs	viru podobné částice
VP1	hlavní kapsidový protein Polyomavirů
VP2, VP3	minoritní kapsidové proteiny Polyomavirů

# Obsah

1 Úvod .....	1
2 Molekulární chaperony z rodiny Hsp70 .....	2
3 Molekulární chaperony z rodiny Hsp90 .....	5
4 Účast molekulárního chaperonu Hsp90 na virové infekci .....	8
4.1 Transport virových částic v rané fázi infekce .....	8
4.1.1 <i>Herpesviridae</i> .....	8
4.2 Vliv na replikaci virové DNA .....	8
4.2.1 <i>Herpesviridae</i> .....	8
4.2.2 <i>Hepadnaviridae</i> .....	9
4.3 Vliv na morfogenezi virových částic v pozdní fázi infekce .....	11
4.3.1 <i>Poxviridae</i> .....	11
4.3.2 <i>Hepadnaviridae</i> .....	12
5 Účast molekulárního chaperonu Hsp70 na virové infekci .....	13
5.1 Transport virových částic v rané fázi infekce .....	13
5.1.1 <i>Adenoviridae</i> .....	13
5.1.2 <i>Polyomaviridae</i> .....	13
5.2 Vliv na replikaci virové DNA .....	15
5.2.1 <i>Herpesviridae</i> .....	15
5.2.2 <i>Papillomaviridae</i> .....	16
5.3 Vliv na produkci proteinů a morfogenezi virových částic v pozdní fázi infekce .....	18
5.3.1 <i>Herpesviridae</i> .....	18
5.3.2 <i>Hepadnaviridae</i> .....	19
5.3.3 <i>Papillomaviridae</i> .....	21
5.3.4 <i>Polyomaviridae</i> .....	22
5.3.5 <i>Adenoviridae</i> .....	22
6 Závěr .....	23
7 Seznam literatury.....	25



# 1 Úvod

Viry jsou obligátní vnitrobuněční parazité. Ve svém životním cyklu využívají buněčný aparát pro vstup do buněk, uvolnění své DNA z kapsid a její zpřístupnění pro transkripci a následnou translaci a replikaci, pro sestavení kapsid a případné obalení kapsid buněčnými membránami. V průběhu infekce mohou ovlivňovat průběh buněčného cyklu, buněčnou signalizaci či úroveň transkripce a translace tak, aby co nejvíce vyhovovala replikaci viru, ale nezpůsobila předčasnou smrt buňky.

Chaperony jsou buněčné proteiny, jež umožňují nově vznikajícím proteinům zaujmout správnou konformaci, zabraňují jejich agregaci, napomáhají tvorbě proteinových komplexů a aktivních forem proteinů a také transportu proteinů mezi různými buněčnými kompartmenty. Nacházejí se v cytoplazmě, jádře, endoplazmatickém retikulu, mitochondriích a u rostlin i v plastidech. Prostřednictvím ovlivňování funkce a aktivity cílových proteinů se podílí na kontrole homeostázy, signalizaci, degradaci proteinů v proteasomu, regulaci růstu buněk a buněčné proliferaci i apoptóze.

Expres některých chaperonů je indukována tepelným či jiným buněčným stresem, například právě virovou infekcí. Virové proteiny se translatují ve velkém množství a jsou často multifunkční. Zároveň velké množství mutací může způsobovat akumulaci potenciálně nestabilních proteinů, které může vést k předčasné smrti buňky.

Díky svým unikátním funkcím v metabolismu proteinů i makromolekulárních struktur jsou chaperony ideálními proteiny pro využití viry během replikačního cyklu.

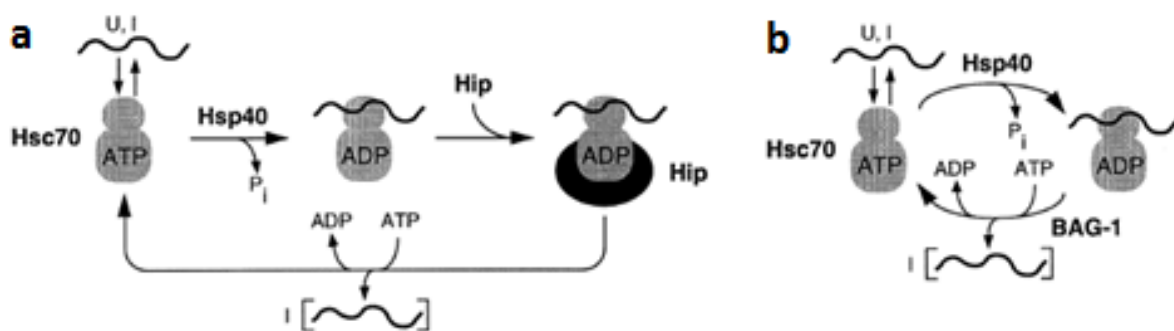
Cílem této práce je popsat způsoby, jakými využívají živočišné viry s dvojvláknovou DNA buněčné chaperony z rodin Hsp70 a Hsp90.

## 2 Molekulární chaperony z rodiny Hsp70

Molekulární chaperony se definují jako proteiny, které interagují s dalšími proteiny, jimž pomáhají zaujmout funkční konformaci, a následně disociují. Hlavní molekulární chaperony zahrnující proteiny tepelného šoku ("heat shock proteins", Hsp) byly objeveny díky jejich zvýšené expresi v průběhu buněčné odpovědi na tepelný stres (Pelham, 1985).

Molekulární chaperony z rodiny Hsp70, u prokaryot nazývané DnaK, jsou proteiny zastávající v buňce řadu důležitých funkcí. Jsou nepostradatelné při skládání nově vznikajících polypeptidů, zabráňují vzniku proteinových agregátů, umožňují stresem denaturovaným proteinům znovu zaujmout správnou konformaci a hrají klíčovou roli v oligomerizaci proteinů i rozkládání oligomerů. Dále se podílí na transportu proteinů specifických pro různé orgány do míst určení a transportu proteinů určených k sekreci přes membrány. Kromě toho jsou proteiny rodiny Hsp70 nedílnou součástí aparátu udržujícího buněčnou homeostázu, protože umožňují přenos signálů na různých úrovních, ať už asistenci při skládání signálních molekul, či jejich transport přes membrány. Tím se podílejí na regulaci odpovědi na buněčný stres, regulaci buněčného cyklu a potažmo i buněčné smrti (Gething, 1999; Helmbrecht and Rensing, 1999; Beere *et al.*, 2000; Mayer, 2005; Deffit and Blum, 2016). Tak velké množství funkcí jsou tyto chaperony schopny zastávat díky tomu, že váží krátké hydrofobní úseky na substrátech a velikost substrátu tak nemá vliv na jejich funkci. Navíc je jejich aktivita regulována dalšími proteiny nazývanými kochaperony a také spolupracují s dalšími chaperonovými systémy (Nollen *et al.*, 2001; Mayer, 2005; Kampinga and Craig, 2010; Stricher *et al.*, 2013; Kravats *et al.*, 2018).

Aktivita těchto proteinů je závislá na hydrolýze ATP. N-terminální doména Hsp70 je ATP/ADP vazebná a probíhá zde hydrolýza ATP a C-terminální doména váže proteinové substráty (Bertelsen *et al.*, 1999; Mayer, 2005; Stricher *et al.*, 2013). ATPasový cyklus sestává z přechodů mezi ATP stavem s nízkou afinitou k substrátu a rychlou výměnou substrátů a ADP stavem s vysokou afinitou k substrátu a pomalou výměnou substrátů. Navázání substrátu a ATPasová aktivita je stimulována kochaperonovými J-proteiny, nazývanými Hsp40 v eukaryotech a DnaJ u prokaryot. Disociaci ADP a výměnu za ATP a následující uvolnění substrátu stimuluje nukleotidové výměnné faktory (NEFs) (Jiang *et al.*, 2005; Kampinga and Craig, 2010; Stricher *et al.*, 2013). Eukaryotickými NEF jsou cytoplazmatické proteiny z rodiny BAG označované BAG1-6 (Höhfeld and Jentsch, 1997; Takayama *et al.*, 1997; Nollen *et al.*, 2000, 2001; Gässler *et al.*, 2001), Hsp110 proteiny (Polier *et al.*, 2008) a Hsp vazebné proteiny - cytoplazmatický HSPB1 (Kabani *et al.*, 2002) a v endoplazmatickém retikulu lokalizovaný BAP (Chung *et al.*, 2002). Prokaryotickým NEF a eukaryotickým mitochondriálním NEF je GrpE (Laloraya *et al.*, 1995; Westermann *et al.*, 1995; Harrison *et al.*, 1997; Packschies *et al.*, 1997). Proti aktivitě BAG-1 působí Hip jakožto stabilizátor vazby substrátu prostřednictvím kompetice o vazbu ATPasové domény (Obr.1) (Höhfeld, Minami and Hartl, 1995; Kanelakis *et al.*, 2000).



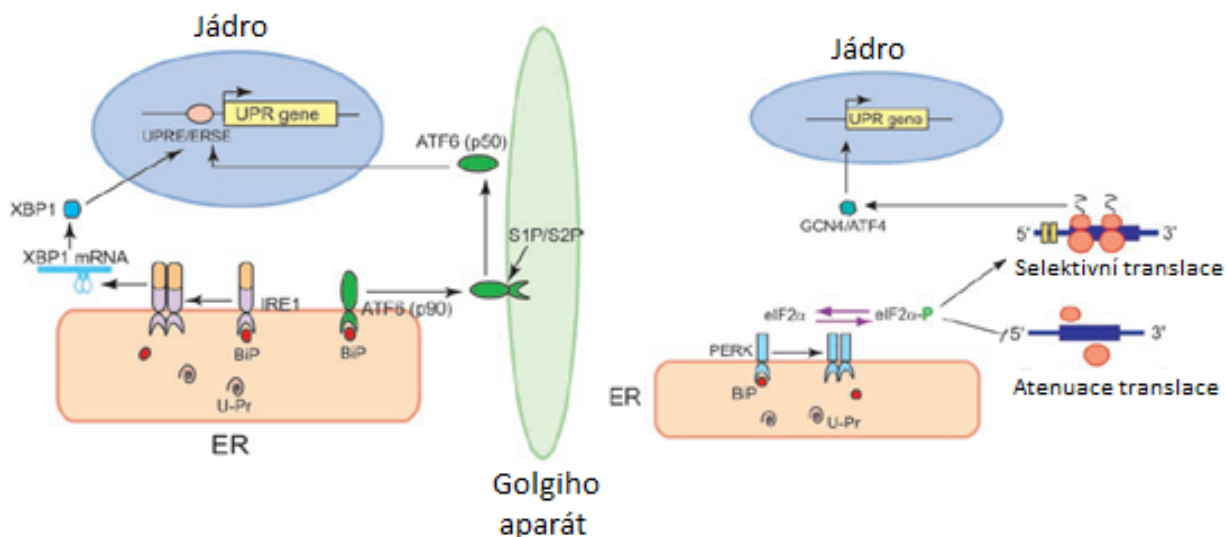
**Obrázek 1: Model reakčního cyklu Hsc70 v přítomnosti Hsp40, Hip a BAG-1.** (a) Hsc70 vázající ATP je charakterizován rychlou asociací a disociací nesbalených substrátů (U) a částečně sbalených intermediátů (I). Vazba Hsp40 stimuluje hydrolyzu navázaného ATP na ADP, čímž stabilizuje vazbu substrátu. S Hsc70 vázajícím ADP asociuje Hip a zpomaluje uvolnění ADP a prodlužuje dobu vazby substrátu. Výměna ADP za ATP způsobí uvolnění substrátu. (b) BAG-1 je antagonistou Hip. Stimuluje uvolnění ADP a uvolnění substrátu, čímž zpřístupňuje Hsc70 pro další reakční cyklus. Převzato a upraveno z: Höhfeld and Jentsch, 1997.

Většina chaperonů Hsp70 je lokalizována v cytoplazmě či jádře. Mezi ně patří HSPA1A, HSPA1B a HSPA8. HSPA1A a HSPA1B, v publikacích obvykle nerozlišované a nazývané Hsp70, jsou hlavní stresem indukovatelné Hsp70. HSPA8, neboli Hsc70, je exprimován konstitutivně a může tvořit až 1 % z celkového množství proteinů v buňce. Nachází se v jádře, jadérku, různých kompartmentech a organelách, v cytoplazmě i na povrchu buňky (Stricher *et al.*, 2013). Podílí se na odstranění klatrinu z endocytických váčků (Schlossman *et al.*, 1984), skládání proteinů spojeném s translací a rozvolňování proteinových agregátů (Thulasiraman *et al.*, 1999). Je jednou z komponent ubiquitin-proteasomové dráhy, tudíž má funkci i v degradaci proteinů (Bercovich *et al.*, 1997). Obsahuje jaderný lokalizační signál (NLS) a je tudíž za spotřeby ATP schopný importu do jádra (Dang and Lee, 1989; Kodiaha *et al.*, 2005).

Dva Hsp70 chaperony jsou organelově specifické, a to HSPA9 (glucose-regulated protein GRP75) v mitochondriích a v ER BiP ("immunoglobulin heavy chain-binding protein", HSPA5, GRP78) (Haas and Wabl, 1983; Munro and Pelham, 1986; Mizzen *et al.*, 1989; Gething, 1999; Stricher *et al.*, 2013). Tyto chaperony mají na N konci NLS pro transport do specifických organel a BiP má navíc na C-konci retenční signál zadržující protein v ER (Stricher *et al.*, 2013).

BiP má v buňce nezastupitelnou funkci. Podílí se na udržování vápníkové homeostázy v buňce, váže nově vznikající a nedostatečně glykosylované proteiny v ER, inhibuje intramolekulární a intermolekulární interakce špatně sbalených a nesbalených proteinů a vznik proteinových agregátů a umožňuje jejich správné sbalení a oligomerizaci (Gething, 1999; Dudek *et al.*, 2009). Neasociuje s nativními proteiny, protože váže sekvence, které jsou za normálních okolností lokalizovány uvnitř správně sbaleného proteinu (Gething, 1999). BiP interaguje v ER s dalšími chaperony (GRP94, calnexin, calreticulin), s proteinovými disulfid izomerázami (PDI), jež se účastní přestavby vznikajících disulfidických vazeb v oxidativním prostředí ER, a peptidylprolyl-*cis/trans*-izomerázami (PPI) (Melnick *et al.*, 1994; Gething, 1999; Dudek *et al.*, 2009). V ER se dále nachází dva NEF, a to BAP (Sill) a GRP170, a proteiny z kochaperonové rodiny Hsp40 nazývané ERdj či DNAJB, které jsou lokalizovány buď v lumen ER či inkorporované do membrány ER (Chung *et al.*, 2002; Shen *et al.*, 2002; Higgs and Peterson, 2005; Weitzmann *et al.*, 2006; Ushioda *et al.*, 2008).

S ER je spojena dráha degradace proteinů, ve které hrají podstatnou roli chaperony. Tato dráha se nazývá ERAD ("endoplasmic reticulum associated degradation") a umožňuje transport velkých multiproteinových komplexů a špatně sbalených proteinů do cytoplazmy, kde jsou degradovány ubiquitin-proteasomovým systémem (Olzmann *et al.*, 2013). Pokud dojde k endoplasmatickému stresu a hromadění nesbalených, či špatně sbalených proteinů, a ERAD přestává být dostačující, dochází k aktivaci UPR ("unfolded protein response") (Zhang and Kaufman, 2004; Xu *et al.*, 2005). Hlavním regulátorem UPR je právě BiP a součástí této dráhy jsou tři klíčové proteiny: IRE1, ATF6 a PERK (Dorner *et al.*, 1992; Bertolotti *et al.*, 2000; Xu *et al.*, 2005; Amin-Wetzel *et al.*, 2017). Tyto proteiny jsou integrované do membrány ER a BiP za normálních okolností asociuje s jejich intraluminálními N-koncovými doménami, čímž jsou udržovány v neaktivním stavu (Shi *et al.*, 1998; Yoshida *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2005; Dudek *et al.*, 2009). Při endoplazmatickém stresu se sníží koncentrace volného BiP, který disociuje z vazeb s IRE1, ATF6 a PERK a váže preferenčně špatně sbalené proteiny v lumen ER, čímž jsou IRE1, ATF6 a PERK aktivovány (Bertolotti *et al.*, 2000; Xu *et al.*, 2005). Disociace BiP z komplexu s ATF6 způsobí odhalení lokalizačního signálu ATF6 zprostředkovávajícího jeho transport do Golgiho aparátu. Zde je ATF6 rozštěpena a její část putuje do jádra a funguje jako transkripční aktivátor genů spjatých s UPR, např. *BiP*, *GRP94* a dalších (Yoshida *et al.*, 1998; Ye *et al.*, 2000; Shen *et al.*, 2002). IRE1 po uvolnění BiP dimerizuje, čímž se aktivuje kinázová a RNázová aktivita. Dojde k sestřihu *XPB1* mRNA kódující transkripční faktory, které se váží do promotorů UPR genů (Yoshida *et al.*, 2001; Xu *et al.*, 2005). Nejrychlejší odpovědí na UPR je globální atenuace translace s výjimkou translace proteinů indukovaných UPR. Inhibice syntézy proteinů a selektivní translace je zajištěna fosforylací eukaryotického iniciačního faktoru 2 aktivovanou PERK kinázou (Obr.2) (Harding *et al.*, 1999; Harding *et al.*, 2000b; Harding *et al.*, 2000a; Scheuner *et al.*, 2001; Dudek *et al.*, 2009).



**Obrázek 2: UPR signalizace prostřednictvím IRE1, ATF6 a PERK.** Nahromaděním nesbalených proteinů v lumen ER dojde k disociaci BiP z intraluminálních domén IRE1, ATF6 a PERK. Uvolnění BiP z IRE1 umožní dimerizaci IRE1, aktivuje kinázovou a RNázovou aktivitu IRE1 a iniciuje sestřih *XPB1* mRNA. Tato mRNA kóduje transkripční faktor, který se váže do promotorů UPR genů. Uvolnění BiP z ATF6 umožní transport ATF6 do Golgiho aparátu, kde je z ATF6 odštěpena cytosolická část, která je transportována do jádra, váže se do promotorů UPR genů a funguje jako transkripční aktivátor. Uvolnění BiP z PERK umožní dimerizaci a aktivaci PERK. Aktivovaná PERK fosforyluje eIF2 $\alpha$ , což má za následek globální atenuaci translace s výjimkou specifických mRNA proteinů souvisejících s UPR. Převzato a upraveno z: Zhang and Kaufman, 2004.

### 3 Molekulární chaperony z rodiny Hsp90

Chaperony z rodiny Hsp90 jsou vysoce konzervované a esenciální pro fungování buněk. Napomáhají skládání proteinů a multiproteinových komplexů, nicméně neúčastní se sbalování nově translatovaných proteinů (Nathan *et al.*, 1997; Geller *et al.*, 2012; Schopf *et al.*, 2017). Váží proteiny, které jsou téměř sbalené, a usnadňují zaujetí specifických aktivních konformací a konformací příhodných pro vazbu ligandu či interakci s dalšími faktory (Jakob *et al.*, 1995; Nathan *et al.*, 1997; Boczek *et al.*, 2015; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf *et al.*, 2017). Regulují takto stabilitu, funkci a aktivitu mnoha proteinů, které jsou součástí důležitých signálních drah a podílí se na kontrole homeostázy a odpovědi na buněčný stres, imunitní odpovědi, opravách DNA, kontrole kvality proteinů, proteasomální degradaci, růstu buněk, proliferaci, diferenciaci i buněčné smrti (Ballinger *et al.*, 1999; Meacham *et al.*, 2001; McClellan *et al.*, 2005; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf *et al.*, 2017). Hsp90 interaguje i se špatně sbalenými proteiny a brání jejich agregaci, nedokáže však na rozdíl od chaperonů z rodiny Hsp70 opravit špatně sbalené proteiny do nativního stavu (Mayer and Le Breton, 2015).

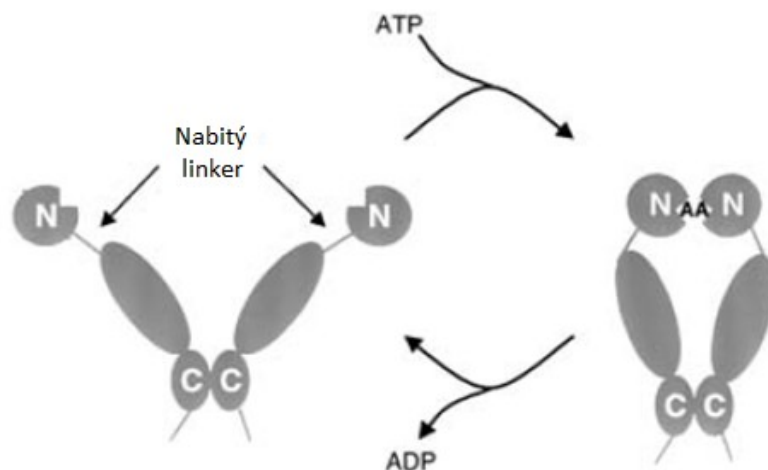
Oproti Hsp70 váže Hsp90 proteiny více specificky. Jeho klienty je několik set proteinů, mezi nimi receptorové proteiny, transkripční faktory, kinázy a další navzájem nepříbuzné proteiny, jež nesdílejí žádné sekvenční podobnosti (Buchner and Li, 2013; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf *et al.*, 2017).

U eukaryotních organismů nacházíme dvě cytoplazmatické formy Hsp90, u vyšších eukaryot navíc mitochondriální homolog TRAP1 a endoplazmatický GRP94 (Felts *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2005; Buchner and Li, 2013; Schopf *et al.*, 2017). Cytoplazmatické formy jsou buď konstitutivně exprimované, u kvasinek nazývané Hsc82 a u savců Hsp90 $\beta$ , nebo stresem indukované, u kvasinek Hsp82 a savčí Hsp90 $\alpha$  (Zhang *et al.*, 1999; Langer *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2005; Buchner and Li, 2013; Schopf *et al.*, 2017).

Hsp90 funguje jako homodimer a dimerizace je esenciální pro jeho funkci (Wayne and Bolon, 2007; Buchner and Li, 2013; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf, Biebl and Buchner, 2017). Monomer Hsp90 se skládá ze tří domén: N-terminální domény (N-terminal domain, NTD), střední domény (middle domain, MD) a C-terminální domény (C-terminal domain, CTD) (Ali *et al.*, 2006; Buchner and Li, 2013; Schopf *et al.*, 2017). NTD je s MD spojena nabitým, vnitřně neuspořádaným linkerem, jehož funkce není zcela jasná (Buchner and Li, 2013; Mayer and Le Breton, 2015). NTD zprostředkovává vazbu ATP (Prodromou *et al.*, 1997). MD se účastní hydrolyzy ATP a přispívá k interakcím s klientskými proteiny a některými kochaperony. Hydrolyza ATP je nutná pro funkci Hsp90 a pro konformační změny spojené s vazbou a přestavbou klientských proteinů (Meyer *et al.*, 2004; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf *et al.*, 2017). CTD je zodpovědná za konstitutivní dimerizaci monomerů Hsp90 (Maruya *et al.*, 1999; Richter *et al.*, 2001; Ratzke *et al.*, 2010; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf *et al.*, 2017). Tato doména obsahuje konzervovaný MEEVD motiv, jež slouží jako vazebné místo pro interakci s kochaperony obsahujícími tetratrikopeptidovou repetici (TPR) (Prodromou *et al.*, 1999). Vazebná místa pro klientské proteiny má Hsp90 na všech třech doménách a jsou to jak hydrofobní, tak hydrofilní oblasti a nabitě úseky s velkým množstvím interakčních míst s nízkou afinitou (Buchner and Li, 2013; Mayer and Le Breton, 2015).

Vazba nukleotidu na NTD indukuje konformační změny celého dimeru (Panaretou *et al.*, 1998; Prodromou *et al.*, 2000; Weikl *et al.*, 2000; Shiao *et al.*, 2006; Graf *et al.*, 2009; Hessling *et al.*, 2009). Ve

chvíli, kdy Hsp90 váže ADP, zaujímá dimer tvar písmene V a označuje se jako otevřená konformace. Po vazbě ATP nastávají konformační změny a dimer se ocitá v zavřené konformaci (Ali *et al.*, 2006; Shiau *et al.*, 2006; Buchner and Li, 2013). V této fázi NTD slabě asociují a tato asociace je nutná pro úspěšnou hydrolyzu ATP (Prodromou *et al.*, 2000; Richter *et al.*, 2002). Po hydrolyze ATP od sebe NTD disociují, uvolňují ADP a vrací se do otevřené konformace (Obr.3) (Hessling *et al.*, 2009).

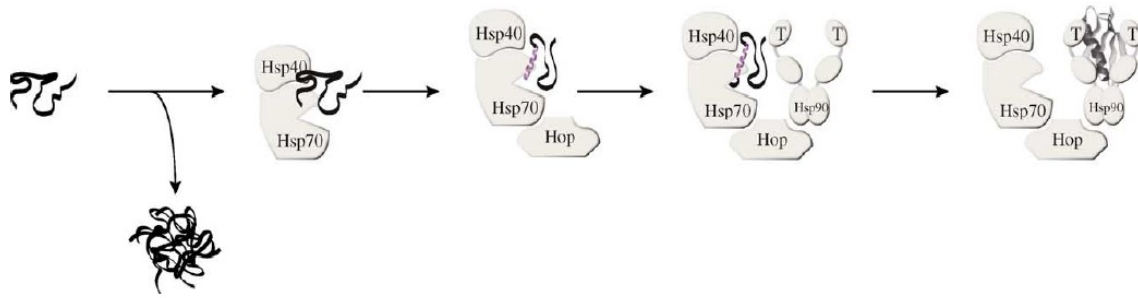


**Obrázek 3: Otevřená a zavřená konformace Hsp90.** V otevřené konformaci ve tvaru písmene V váže Hsp90 ADP a zavřené konformaci váže ATP. Převzato a upraveno z: Prodromou *et al.*, 2000.

Hsp90 je slabá ATPasa (Prodromou *et al.*, 1997; Weikl *et al.*, 2000; Richter *et al.*, 2001, 2008; McLaughlin *et al.*, 2002). Proto je chaperonový cyklus regulován více než dvaceti typy kochaperonů interagujících s Hsp90 prostřednictvím vazebných míst nacházejících se na všech třech doménách (Buchner and Li, 2013; Schopf *et al.*, 2017). Kochaperony svou vazbou k Hsp90 indukují i konformační změny dimeru (Mickler *et al.*, 2009; Retzlaff *et al.*, 2010; Street *et al.*, 2011). Funkce Hsp90 regulují více způsoby; některé modulují ATPasový cyklus, ať už pozitivně, či jako inhibitory, mohou směřovat proteiny k Hsp90 a sloužit jako adaptory pro vazbu substrátu k chaperonu, stabilizovat interakci Hsp90 a klientského proteinu či zastávat více zmíněných funkcí zároveň (Buchner and Li, 2013; Mayer and Le Breton, 2015; Schopf *et al.*, 2017). Kromě kochaperonů může být Hsp90 regulován i jak na transkripční, tak na translační úrovni, nicméně kochaperony zůstávají nejdůležitějšími regulátory jeho funkce (Panaretou *et al.*, 2002; Schopf *et al.*, 2017).

Největší skupinou kochaperonů jsou TPR kochaperony rozeznávající MEEVD motiv na CTD (Scheufler *et al.*, 2000; Schmid *et al.*, 2012; Buchner and Li, 2013). Nejlépe charakterizovaným TPR kochaperonem je Hsc70-Hsp90 organizující protein Hop (Sti1). Hop váže jak Hsp90, tak Hsc70 a umožňuje transfer klientů z Hsc70 k Hsp90 a zároveň funguje jako adaptor pro oba chaperony (Chen and Smith, 1998; Johnson *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2012; Schmid *et al.*, 2012; Buchner and Li, 2013; Alvira *et al.*, 2014; Röhl *et al.*, 2015; Schopf, Biebl and Buchner, 2017). Nově translatované klientské proteiny Hsp90 interagují v přítomnosti Hop s Hsc70, jenž zabrání jejich nevratně špatnému sbalení a agregaci. Interakci moduluje Hsp40 a téměř sbalený protein je prostřednictvím Hop transferován k Hsp90. Následně dochází k disociaci Hsc70 z intermediátového komplexu Hsp40-Hsc70-klient-Hop-Hsp90 a vzniká komplex Hsp90-klientský

protein, ve kterém je protein udržován v konformaci umožňující například vazbu ligandu či aktivaci (Obr.4) (Wegele *et al.*, 2006; Mayer and Le Breton, 2015).



**Obrázek 4: Transfer proteinů z Hsp70 k Hsp90.** Nově translatovaný klientský protein chaperonu Hsp90 asociuje s Hsp70, aby nedošlo ke špatnému sbalení a agregaci. Aktivita Hsp70 je modulována vazbou Hsp40. Protein je sbalen do téměř nativní konformace a na komplex Hsp40-Hsp70-substrát se váže Hop a slouží jako adaptor pro vazbu Hsp90. Hsp90 s navázaným proteinem poté disociuje z intermediátového komplexu Hsp40-Hsc70-klient-Hop-Hsp90. Převzato a upraveno z: Wegele *et al.*, 2006.

## 4 Účast molekulárního chaperonu Hsp90 na virové infekci

### 4.1 Transport virových částic v rané fázi infekce

#### 4.1.1 *Herpesviridae*

Již déle je známo, že Herpes simplex virus typu 1 (HSV-1) využívá pro pohyb virových částic do jádra síť mikrotubulů (Sodeik *et al.*, 1997). Účast chaperonu Hsp90 na transportu kapsidového proteinu ICP5 do jádra je však poměrně recentním objevem (Zhong *et al.*, 2014). Inhibice Hsp90 způsobí inhibici již časných fází infekce HSV (Li *et al.*, 2004; Ju *et al.*, 2011; Xiang *et al.*, 2012). Ačkoliv mechanismus není zatím objasněn, nabízí se jako jedno z možných vysvětlení inhibice pohybu virových částic do jádra. HSV-1 po infekci indukuje zvýšení množství Hsp90 a jeho jadernou translokaci, přičemž jaderná translokace Hsp90 koreluje s jaderným importem kapsidového proteinu ICP5. Hsp90 interaguje s ICP5 a je nezbytný pro jeho vstup do jádra. Zároveň Hsp90 v průběhu infekce interaguje s mikrotubuly, jejichž acetylace je při infekci HSV zvýšená. Přidáním inhibitorů Hsp90 je potlačena acetylace  $\alpha$ -tubulinu, interakce Hsp90 s mikrotubuly a jaderný transport ICP5. Současně dochází k degradaci kapsidového proteinu v cytoplazmě. Posléze je potlačena i exprese bezprostředně časných genů, což podporuje hypotézu, že Hsp90 je nutný pro pohyb částic do míst replikace, tedy do jádra (Zhong *et al.*, 2014).

### 4.2 Vliv na replikaci virové DNA

#### 4.2.1 *Herpesviridae*

Využití molekulárních chaperonů viry z čeledi *Herpesviridae* je velmi široké. U tří zástupců, a to Herpes simplex viru typu 1 (HSV-1), Herpes simplex viru typu 2 (HSV-2) a viru Epstein-Barrové (EBV), se podílí chaperon Hsp90 na importu virové polymerázy do jádra, kde dochází k replikaci virové DNA (Burch and Weller, 2005; Kawashima *et al.*, 2013). Mechanismus tohoto procesu se ovšem u virů Herpes simplex (HSV) oproti viru Epstein-Barrové výrazně liší.

Inhibice Hsp90 v buňkách infikovaných HSV zabraňuje syntéze virové DNA a inhibuje virovou replikaci (Li *et al.*, 2004, 2012; Burch and Weller, 2005). V sekvenci virové polymerázy UL30 je obsažena sekvence NLS a v přítomnosti chaperonu Hsp90 je polymeráza importována do jádra (Loregian *et al.*, 2000; Burch and Weller, 2005). V případě inhibice Hsp90 geldanamycinem při infekci HSV-1 nedochází k importu UL30 do jádra. UL30 zůstává rozptýlena v cytoplazmě a je postupně degradována v proteasomech. V případě současné inhibice Hsp90 a proteasomů UL30 není transportována do jádra, nicméně její množství v cytoplazmě se nemění. Interakce UL30 s Hsp90 tedy pravděpodobně způsobí konformační změnu, při které je odhalen NLS, a zároveň Hsp90 chrání UL30 před degradací v proteasomech. Vzhledem k tomu, že Hsp90 prokazatelně asociuje s UL30 a nachází se během replikace virové DNA ve stejném buněčném kompartmentu, může se podílet například i na zvýšení její aktivity (Burch and Weller, 2005). Obdobný mechanismus se předpokládá i u HSV-2. Tato hypotéza však nebyla doposud potvrzena.

Na rozdíl od polymerázy HSV-1 je polymeráza EBV složená ze dvou podjednotek. První z nich je katalytická podjednotka s polymerázovou a exonukleázovou aktivitou nazývaná BALF5, která postrádá NLS. Druhou z nich je BMRF1, faktor zvyšující procesivitu polymerázy, který zároveň obsahuje NLS (Tsurumi *et al.*, 1993; Tsurumi *et al.*, 1994). Tyto dvě podjednotky spolu v přítomnosti Hsp90 interagují a



jsou transportovány z cytoplazmy do jádra. Hsp90 však nezůstává s podjednotkami asociován po vstupu do jádra jako v případě HSV (Burch and Weller, 2005; Kawashima *et al.*, 2013). Experimenty ukázaly, že jaderný transport BMRF1 je na Hsp90 nezávislý. Oproti tomu snížená exprese či inhibice Hsp90 geldanamycinem znemožní jaderný import BALF5 podjednotky. Zároveň inhibice proteasomu nijak neovlivňuje množství polymerázy v buňce. Hsp90 tedy není nutný pro stabilizaci BALF5 podjednotky, aby nedošlo k její degradaci v proteasomu. Jeho funkce spočívá v asociaci s touto podjednotkou, čímž umožní její vazbu na podjednotku BMRF1. Poté Hsp90 disociuje a komplex obou podjednotek je na základě NLS BMRF1 podjednotky importován do jádra (Kawashima *et al.*, 2013).

Dalším virem z čeledi *Herpesviridae* využívající chaperon Hsp90 je virus Varicella-Zoster. V průběhu latentní infekce jsou v malé míře produkovány proteiny asociované s latencí (LAPs), které jsou lokalizovány v cytoplazmě (Cohrs *et al.*, 1996; Lungu *et al.*, 1998; Grinfeld and Kennedy, 2004). Mezi tyto proteiny patří i ORF29p. ORF29p je ssDNA vazebný protein podílející se na replikaci virové DNA (Lungu *et al.*, 1998). Ve své sekvenci obsahuje NLS (Stallings and Silverstein, 2005) a je v průběhu primární infekce či v průběhu lytické infekce importován do jádra. Stabilita ORF29p závisí na jeho lokalizaci v buňce (Stallings *et al.*, 2006). Jaderná lokalizace a stabilita tohoto proteinu je regulována chaperonem Hsp90, který je v průběhu infekce VZV transportován z cytoplazmy do jádra. Inhibice ATPázové aktivity Hsp90 v lytické fázi infekce způsobí vyloučení ORF29p z jádra do cytoplazmy a jeho degradaci v proteasomu (Kyratsous and Silverstein, 2007). Současnou inhibicí proteasomu a Hsp90 může být však degradaci ORF29p zabráněno a protein může znovu lokalizovat do jádra (Stallings *et al.*, 2006). Mimo regulaci lokalizace a stability ORF29p se Hsp90 podílí i na šíření infekce. Inhibice Hsp90 totiž zamezuje propojení buněk a přestože některé infikované buňky exprimují časné a pozdní virové proteiny, nedochází k infekci okolních buněk. Je možné, že Hsp90 a další proteiny tepelného šoku se podílejí na regulovaném přepnutí mezi latentní a lytickou infekcí, nicméně tato hypotéza musí být ještě detailně prozkoumána (Kyratsous and Silverstein, 2007).

#### 4.2.2 *Hepadnaviridae*

Viry z čeledi *Hepadnaviridae* se replikují pomocí reverzní transkripce. Reverzní transkriptáza, neboli P protein, se v cytoplazmě váže na specifickou sekvenci na pregenomové RNA (pgRNA) nazývanou  $\epsilon$ . Tato vazba slouží jako enkapsidační signál pro zavzetí pgRNA do vznikajících virových kapsid, v nichž následně probíhá syntéza částečně dvouvláknové DNA z pgRNA (Bartenschlager and Schaller, 1992; Wang and Seeger, 1992). Studium mechanismu tohoto procesu a faktorů nutných pro jeho průběh se věnovalo již mnoho studií a během výzkumu se hypotézy výrazně měnily a upravovaly. Společným výsledkem těchto studií je, že tento proces se neobejde bez asistence chaperonů hostitelské buňky.

Hu and Seeger, (1996), určili jako nezbytný faktor chaperon Hsp90. Přidání specifických protilátek proti Hsp90 před zformováním komplexu polymerázy a  $\epsilon$  RNA způsobilo *in vitro* 50-násobné snížení primingové aktivity polymerázy. Oproti tomu přidání protilátek až po inkubaci polymerázy s pgRNA došlo pouze k dvojnásobné redukci polymerázové aktivity. Z toho plyne, že inhibice Hsp90 znemožní polymeráze efektivně se vázat na  $\epsilon$  RNA. Je-li Hsp90 inhibován geldanamycinem *in vitro*, nedochází v případě předchozí inkubace polymerázy s pgRNA k inhibici polymerace, zatímco při vzrůstající koncentraci geldanamycinu

přidaného před zformováním komplexu klesá polymerázová aktivita lineárně. Z těchto pozorování můžeme vyvodit, že Hsp90 není nutný pro polymerázovou reakci samotnou, ale pouze pro úspěšnou vazbu polymerázy k  $\epsilon$  RNA. Zároveň, vzhledem k tomu, že vazba polymerázy k  $\epsilon$  RNA slouží současně jako signál pro zahájení enkapsidace RNA a morfogeneze částic, dochází po inhibici Hsp90 geldanamycinem *in vivo* i ke snížení efektivity enkapsidace, a to až desetinásobnému. V použitých koncentracích geldanamycinu nebyla ovlivněna produkce strukturních proteinů. To potvrzuje, že příčinou inhibice enkapsidace nemůže být narušení morfogeneze, ale způsobuje ji snížení intenzity enkapsidačního signálu (Hu and Seeger, 1996).

Navazující experimenty provedené *in vitro* potvrdily, že Hsp90 je pro zahájení polymerace nutný, nicméně jsou potřeba ještě další faktory, a to kochaperon p23 a chaperon Hsc70 (Hu *et al.*, 1997). Na základě této a předchozích studií (Hu and Seeger, 1996) byl navržen model, ve kterém Hsp90 spolu s p23 stabilizuje přechodné konformace polymerázy v průběhu syntézy virové DNA, které jsou ustavovány pomocí Hsc70 a ATP. V souladu s touto hypotézou je i fakt, že Hsp90 a p23 jsou spolu s reverzní transkriptázou inkorporovány do nukleokapsid (Hu *et al.*, 1997).

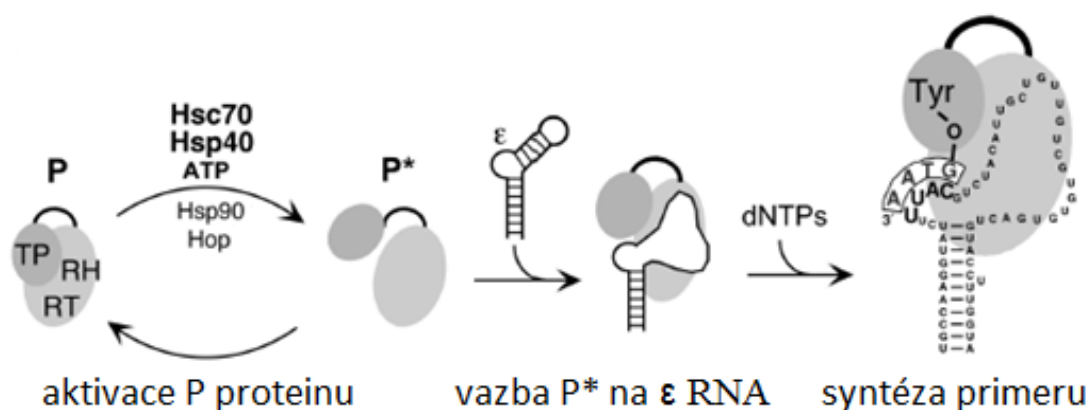
Hu *et al.*, 2002, dosáhli signifikantní polymerace pgRNA *in vitro* v přítomnosti čtyř celulárních faktorů, a to chaperonů Hsp90 a Hsc70 a kochaperonů Hop a Hsp40. Žádný z těchto faktorů sám o sobě či v kombinaci s dalšími jedním či dvěma faktory nebyl schopný vyvolat efektivní polymeraci. Pouze v případě kombinace Hsc70 a Hsp40 byla pozorována slabá aktivita polymerázy. Avšak kinetika polymerázové aktivity byla v případě experimentů s purifikovanými proteiny nižší, než v případě požití retikulocytového lyzátu (RL). Toto pozorování naznačuje zapojení ještě dalších buněčných proteinů v iniciaci polymerace. Pozitivní vliv na kinetiku polymerázové aktivity mělo přidání p23. Přítomnost tohoto proteinu zvýšila aktivitu polymerázy na 60-70% aktivity za použití retikulocytového lyzátu. Protein p23 se ukázal jako neesenciální, nicméně jakožto výrazně stimulační interakční partner Hsp90.

V rozporu s předchozími výsledky je studie, v níž autoři experimentálně *in vitro* dokázali, že iniciace syntézy DNA podle RNA templátu pomocí rekombinantní polymerázy je možná v přítomnosti pouze Hsc70, Hsp40 a ATP. Ačkoliv se reakce kinetikou a průběhem liší od reakce probíhající v RL, při vhodném poměru koncentrací proteinů se aktivita polymerázy blíží té v retikulocytovém lyzátu (Beck and Nassal, 2003).

Tyto nesourodé výsledky byly propojeny v práci z roku 2007. Zde autoři potvrdili, že aktivace reverzní transkriptázy je možná v přítomnosti pouze Hsc70, Hsp40 a ATP. Aktivace polymerázy je nicméně stimulována přidáním NEF Bag-1 nebo Hsp90 a Hop. Při použití mutantních verzí Hsp90 (i) bez ATPázové aktivity a (ii) bez vazebné domény pro Hop v kombinaci s Hsc70, Hsp40 a ATP bylo zjištěno, že proteiny bez Hop vazebné domény neměly na zahájení polymerace ve srovnání s proteiny bez ATPázové aktivity ani poloviční vliv (Stahl *et al.*, 2007). Tato studie předkládá hypotézu, proč se v předchozích pracích (Hu and Seeger, 1996) jevil Hsp90 jako esenciální a závislý na hydrolyze ATP. Vzhledem k tomu, že komplex Hsp90/Hop stimuluje aktivitu komplexu Hsc70/Hsp40, mohl působit jako nepostradatelný faktor z důvodu použití nízkých koncentrací polymerázy (P proteinu), kdy byla přítomnost či nepřítomnost stimulantu rozhodujícím faktorem (Stahl *et al.*, 2007). Ačkoliv v tomto případě je funkce Hsp90 na ATP nezávislá, Hsc70 ATP pro svou funkci vyžaduje. Z tohoto důvodu nedocházelo k iniciaci polymerace po odebrání ATP v předchozích experimentech (Hu and Seeger, 1996). Polymerázová aktivita v přítomnosti inhibitorů Hsp90

sice klesla (Hu and Seeger, 1996), nicméně nikdy nevymizela zcela. Výrazného poklesu bylo dosaženo až v hraničně cytotoxických koncentracích inhibitoru. Zároveň Hsp90 není schopen se sám o sobě vázat na P protein, což dokazuje nutnost přítomnosti Hsc70/Hsp40 adaptorového proteinu Hop a schopnost Hsp90 Hop vázat, aby došlo ke zvýšení polymerázové aktivity (Stahl *et al.*, 2007).

Shrneme-li doposud provedené experimenty a pozorované výsledky, viry z čeledi *Hepadnaviridae*, konkrétně experimentálně využívaný Virus kachní hepatitidy (duck hepatitis B virus; DHBV), vyžadují pro aktivaci své reverzní transkriptázy Hsc70, Hsp40 a ATP hostitelské buňky. Aktivita Hsc70 je stimulována na ATP nezávislou chaperonovou aktivitou Hsp90 interagujícího s Hsc70 přes adaptorový protein Hop (Obr. 6), a dalších celulárních faktorech, jako například Bag-1, a dalších, které nebyly doposud popsány. Chaperonový systém Hsp90 se v tomto procesu pravděpodobně podílí na zvýšení koncentrace Hsc70 systémem aktivovaného P-proteinu (P\*), není však zatím známo, zda prostřednictvím zvyšování produkce P\*, či stabilizací P\*. (Stahl *et al.*, 2007).



**Obrázek 5: Model iniciace replikace DNA hepadnavirovým P proteinem.** Hsc70 spolu s Hsp40 za spotřeby ATP převede P protein do metastabilní aktivované konformace (P\*), která je schopná vázat  $\epsilon$  RNA. Aktivita Hsc70 je stimulována Hsp90 přes adaptorový protein Hop bez spotřeby ATP. Asociace s  $\epsilon$  RNA je následována konformačními změnami P\* a ve struktuře RNA, které umožní syntézu krátkého oligonukleotidového templátu pro reverzní transkriptázu P\*. Převzato a upraveno z: Stahl *et al.*, 2007.

## 4.3 Vliv na morfogenezu virových částic v pozdní fázi infekce

### 4.3.1 *Poxviridae*

Infekce virem Vaccinie z čeledi *Poxviridae* může indukovat v některých buněčných typech, například makrofázích, nárůst množství Hsp70 a jeho interakci s virovými proteiny (Jindal and Young, 1992). To by mohlo naznačovat účast Hsp70 na virové replikaci. Avšak další studie ukázaly, že množství Hsp72 v buňkách po infekci sice narůstalo, ale replikace viru Vaccinie na něm byla nezávislá a zvýšení množství Hsp70 v buňkách nemělo efekt na virovou replikaci. Stejně tak nebyla virová replikace ovlivněna v Hsp70 deficientních liniích (Sedger *et al.*, 1996). Následující experimenty ukázaly, že ne ve všech buněčných typech infekce virem Vaccinie indukuje nárůst množství Hsp70. Pro replikaci viru je esenciální jiná buněčná složka, a to chaperon Hsp90. Jeho množství sice v průběhu infekce nevzrůstalo, ale prokazatelně asociovalo s virovými částicemi již po vstupu do buňky. Zároveň byl prokázán i podíl tohoto chaperonu na replikaci. Po ošetření buněk geldanamycinem byla replikace viru inhibována. Konkrétně bylo pozorováno, že Hsp90 interaguje s proteinem core 4a a v případě absence tohoto proteinu nebyl přítomen

Hsp90 v místě replikace viru (tzv. virosomy). Asociace s virosomy byla přerušena ve chvíli, kdy začalo docházet k maturaci a produkci virových částic (Hung *et al.*, 2002). Do té doby byl Hsp90 navázán na core protein 4a. Vzhledem k tomu, že tento protein hraje roli v destabilizaci virových částic tím, že redukuje disulfidické vazby mezi kapsidovými proteiny (Locker and Griffiths, 1999) po vstupu do buňky, je zde možná i účast Hsp90 na tomto procesu. Hsp90 může hrát roli i v intracelulárním pohybu částic směrem k perinukleárnímu prostoru s využitím mikrotubulů (Hung *et al.*, 2002).

#### **4.3.2 Hepadnaviridae**

Viry z čeledi *Hepadnaviridae* využívají chaperon Hsp90 nejen k aktivaci virové polymerázy, ale i při skládání kapsid (Shim *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2015). Hsp90 byl nalezen v kapsidách DHBV i viru lidské hepatitidy B (HBV), přičemž v případě DHBV je do kapsid inkorporován v komplexu s virovou polymerázou a kochaperonem p23 (Hu *et al.*, 1997), (viz kapitola 4.2.1). Oproti tomu do kapsid viru lidské hepatitidy B je Hsp90 inkorporován prostřednictvím vazby na kapsidové proteiny a zároveň má výrazně pozitivní vliv na efektivitu skládání částic (Shim *et al.*, 2011). Experimenty, které toto prokázaly, byly provedeny s využitím proteinu Cp149. Cp149 kapsidový protein zkrácený na C konci o 34 aminokyselin. Tento protein se strukturně neliší od nezkráceného proteinu a je schopen spontánního skládání a vytváření kapsid *in vitro* i *in vivo* (Wingfield *et al.*, 1995; Kang *et al.*, 2008). Ukázalo se, že se Hsp90 váže k Cp149 dimerům, a jeho absence či inhibice *in vivo* výrazně prodlužuje dobu skládání kapsid (Shim *et al.*, 2011). Výrazný vliv na skládání virových kapsid má i oxidativní stres (ROS), který HBV svou replikací v buňkách způsobuje (Severi *et al.*, 2006). Při zvýšeném ROS a za přítomnosti Hsp90 dochází k efektivnější tvorbě částic. Naopak v přítomnosti inhibitorů Hsp90 či antioxidantů je skládání částic inhibováno (Kim *et al.*, 2015). HBV tedy využívá Hsp90 pro optimalizaci procesu morfogeneze virionu a indukci ROS podporuje aktivitu chaperonu v tomto procesu.

## 5 Účast molekulárního chaperonu Hsp70 na virové infekci

### 5.1 Transport virových částic v rané fázi infekce

#### 5.1.1 *Adenoviridae*

Adenovirus je po vazbě na membránu a internalizaci transportován cytoplazmou v endocytických váčcích. Hlavním kapsidovým proteinem je hexonový protein, nicméně vazbu na membránu a internalizaci zprostředkovávají proteiny vláknitého výběžku (fiber proteiny) a pentonový protein (Bergelson *et al.*, 1997). Nízké pH uvnitř endocytických váčků způsobí změny ve struktuře kapsid, takže se do cytoplazmy uvolňují již bez pentonového proteinu a dalších minoritních proteinů (Greber *et al.*, 1993; Saphire *et al.*, 2000). Po uvolnění kapsid z endocytických váčků s nimi skrze vazbu na hexonový protein asociují Hsp70 a Hsc70 (Niewiarowska *et al.*, 1992). Inhibice Hsp70/Hsc70 způsobí, že virová DNA nemůže být importována do jádra. Přesný mechanismus inhibice není doposud znám. Vzhledem k tomu, že pro jaderný import DNA je nezbytné rozvolnění kapsid, je možné, že Hsp70/Hsc70 se na rozvolnění kapsid přímo podílí, nebo je udržuje v rozvolněném stavu. Druhou možností může být, že Hsp70/Hsc70 způsobí změnu konformace proteinů na povrchu kapsid a odhalení NLS, který umožní vazbu k jadernému póru. Alternativně může mít Hsp70/Hsc70 vliv na samotné komponenty jaderného póru a umožnit tak vstup DNA do jádra (Saphire *et al.*, 2000).

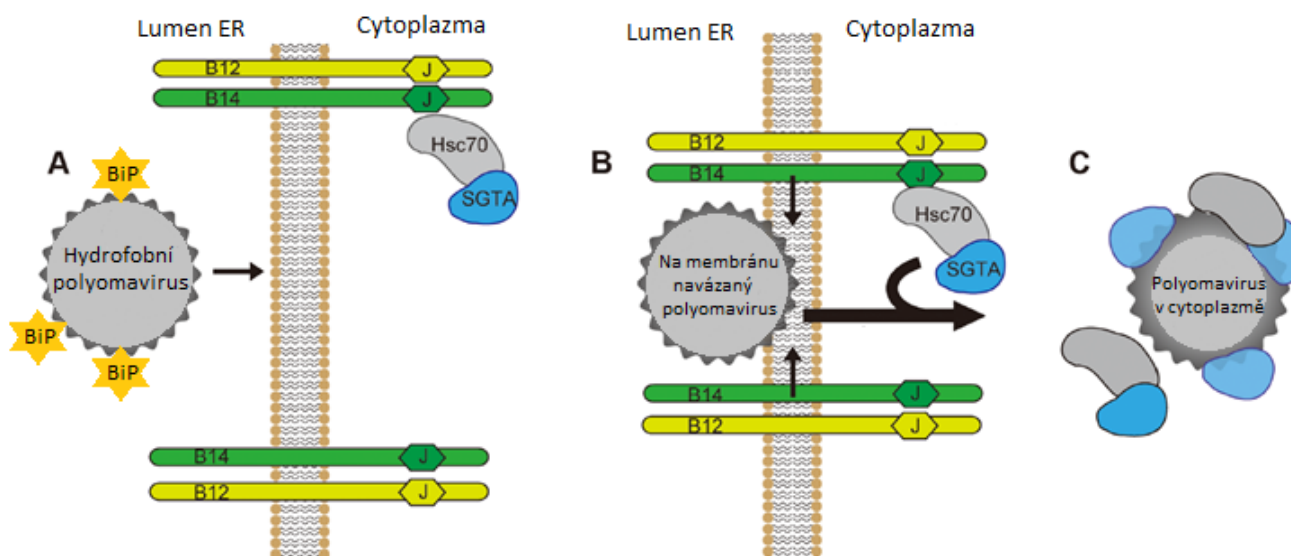
#### 5.1.2 *Polyomaviridae*

Viry z čeledi *Polyomaviridae* (PyV), zahrnující primátí Simian virus 40 (SV40), Myší polyomavirus (MPyV), a lidský BK virus (BKV) a JC virus (JCV), mají kapsidy složeny ze 72 kapsomer. Kapsomery jsou tvořeny pentamery hlavního kapsidového proteinu VP1 (Rayment *et al.*, 1982; Liddington *et al.*, 1991). C-terminální doména každého VP1 monomeru zasahuje do sousedního pentameru a tento kontakt je stabilizován vápenatými ionty (Liddington *et al.*, 1991). V prohlubni každého pentameru se prostřednictvím hydrofobních interakcí váže minoritní protein VP2 nebo VP3 (Griffith J. P. *et al.*, 1992; Chen *et al.*, 1998).

Při infekci se virus váže na vnější povrch cytoplazmatické membrány, je endocytován a v endosomech se dostává do endoplazmatického retikula (Kartenbeck *et al.*, 1989; Mannová and Forstová, 2003; Tsai *et al.*, 2003; Engel *et al.*, 2011). Endocytóza probíhá na klatrinu nezávislou kaveolární endocytózou (Liebl *et al.*, 2006; Schelhaas *et al.*, 2007) či u JCV klatrinem zprostředkovanou endocytózou (Nelson *et al.*, 2012). V lumen endoplazmatického retikula (ER) podstupují kapsidy PyV konformační změnu (Geiger *et al.*, 2011). PDI, ERp57 a ERp29 katalyzují přeskupení a redukci disulfidických vazeb mezi VP1, což je iniciálním krokem v rozvolnění kapsid SV40, MPyV a JCV (Norkin *et al.*, 2002; Magnuson *et al.*, 2005; Gilbert *et al.*, 2006; Schelhaas *et al.*, 2007; Nelson *et al.*, 2012). Přeskupením disulfidických vazeb jsou narušeny VP1 pentamery, některé VP1 se oddálí a zůstávají se zbytkem kapsidy asociovány prostřednictvím hydrofobních interakcí a vápníkových můstků (Liddington *et al.*, 1991; Schelhaas *et al.*, 2007). Následkem izomerace vazeb je také lokální rozbalení C-konce VP1, čímž dochází k odkrytí VP2/VP3. VP2 obsahuje 3 hydrofobní sekvence, jejichž odhalení způsobí zvýšení afinity k membráně ER a inzerci těchto domén do membrány (Magnuson *et al.*, 2005; Daniels *et al.*, 2006; Rainey-Barger *et al.*, 2007; Geiger *et al.*, 2011; Huérfano *et al.*, 2017). Pravděpodobně proto, aby nedocházelo k nežádoucím interakcím a agregaci VP2/3 s jinými proteiny před inzercí do membrány, váže se na odhalené hydrofobní části BiP

(Geiger *et al.*, 2011; Goodwin *et al.*, 2011; Inoue and Tsai, 2015). Vazba BiP je možná pouze v přítomnosti dalšího luminálního proteinu, a to DNAJB11 (Goodwin *et al.*, 2011). DNAJB11 (ERdj3) je kochaperon Hsp70 z rodiny Hsp40 a je stejně jako BiP součástí ERAD dráhy (Higgs and Peterson, 2005; Goodwin *et al.*, 2011). Ačkoliv BiP ani DnaJ proteiny nejsou nutné pro izomeraci vazeb VP1 a odhalení VP2/3, závislost interakce BiP s VP2/3 na přítomnosti DNAJB11 naznačuje, že BiP a DNAJB11 katalyzují konformační změny kapsidových proteinů nutných pro exit z ER. To by bylo v souladu s pozorováním, že DnaK spolu s DnaJ katalyzují částečné disassembly *in vitro* (Chromy *et al.*, 2006; Goodwin *et al.*, 2011). BiP spolu s DNAJB11 se nejspíše podílí i na translokaci rozvolněných partikul z luminálního prostoru k membráně ER, kam se hydrofobní řetězce VP2/VP3 inzertují (Daniels *et al.*, 2006; Rainey-Barger *et al.*, 2007; Goodwin *et al.*, 2011). Vstup SV40 do ER indukuje reorganizaci a koncentraci membránových DnaJ proteinů, a to DNAJB12 a DNAJB14, do míst označovaných jako foci (Walczak *et al.*, 2014). Pro vazbu virové částice k membráně ER je nutná disociace BiP z VP2/3, na které se podílí NEF GRP170, jak bylo prokázáno *in vitro* i *in vivo* (Inoue and Tsai, 2015). Odhalení hydrofobních částí VP2 zajistí vazbu k membráně v místě foci. Nezprostředkovává však interakce s DNAJB12 a DNAJB14, jelikož tyto dva proteiny neobsahují nabitou doménu, jež by interagovala s řetězcem VP2 (Walczak *et al.*, 2014; Inoue and Tsai, 2015). Na transportu SV40 do cytoplazmy skrz membránu ER v místě foci tvořeném DNAJB12 a DNAJB14 se podílí cytoplazmatický Hsc70, Hsp105 a "small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein  $\alpha$ " (SGTA). Komplex těchto tří proteinů je navázán na membránu přes cytoplazmatickou doménu DNAJB14 (Walczak *et al.*, 2014; Ravindran *et al.*, 2015). Snížení exprese SGTA zvýší efektivitu s jakou Hsc70 asociovaný s membránou váže SV40 penetrující skrz membránu, což inhibuje transport SV40 do cytoplazmy. Také mírné snížení exprese Hsc70 výrazně inhibuje transport SV40 do cytoplazmy (Dupzyk *et al.*, 2017). Ve chvíli, kdy SV40 penetruje membránu ER, dochází k disociaci SGTA a Hsc70 z komplexu DNAJB12/DNAJB14 (Walczak *et al.*, 2014). Hsc70 zastává esenciální roli ve vyvázání SV40 z membrány ER a transportu částice do cytoplazmy, přičemž tento proces je kontrolován SGTA (Obr.6) a podílí se na něm i Hsp105 (Ravindran *et al.*, 2015; Dupzyk *et al.*, 2017). Po transportu do cytoplazmy směřuje virová partikule na základě NLS nacházející se na strukturních proteinech do jádra, kde probíhá virová replikace (Nakanishi *et al.*, 1996, 2002; Soldatova *et al.*, 2018).

Snížení exprese DNAJB12 a DNAJB14 či inhibice BiP subtilázou inhibuje transport PyV z ER do cytoplazmy a expresi časných proteinů PyV (Geiger *et al.*, 2011; Goodwin, Lipovsky and Inoue, 2011). Pro úspěšnou penetraci je esenciální i schopnost DNAJB14 vázat komplex Hsc70/SGTA (Walczak *et al.*, 2014). Ačkoliv některé proteiny účastníci se transportu kapsid jsou součástí ERAD dráhy, i rozvolněná částice je stále větší než obvyklé substráty ERAD dráhy. Transport částice může probíhat přes fyzické narušení membrány nebo vytvoření kanálu. Přesný mechanismus není zatím znám (Goodwin *et al.*, 2011). Jisté je, že chaperony z rodiny Hsp70 a jejich kochaperony rodiny Hsp40, a to jak luminální, tak cytoplazmatické, jsou esenciální pro úspěšný transport virové částic PyV z endoplazmatického retikula do jádra.



**Obrázek 6: Transport polyomaviru z ER do cytoplazmy.** (A) Kapsidové proteiny polyomaviru podstoupily v lumen ER konformační změny a odhalily hydrofobní sekvence, na něž se váže BiP. Hydrofobní částice se váže k membráně ER. (B) Virová částice se váže na membránu do foci tvořených DNAJB12 a DNAJB14, na které se z cytoplazmatické strany váží Hsc70 a SGTA. (C) Po penetraci membrány se Hsc70 a SGTA uvolní z vazby s DNAJB12 a DNAJB14 následkem fyzické interakce s virovou částicí. Převzato a upraveno z: Walczak *et al.*, 2014.

## 5.2 Vliv na replikaci virové DNA

### 5.2.1 Herpesviridae

Lidské  $\alpha$  Herpesviry remodelují v průběhu replikace jádro hostitelské buňky. Replikace DNA, morfogeneze kapsid a zavzetí DNA do virionů probíhá ve velkých globulárních doménách v jádře, tedy replikačních/transkripčních kompartmentech (RTCs) (Liptak *et al.*, 1996). Infekce HSV-1 indukuje vznik jaderných foci obsahujících množství buněčných chaperonů. Tyto struktury se nazývají VICE, tedy "virus-induced chaperone-enriched domains" a obvykle přiléhají k RTCs (Burch and Weller, 2004). Kromě chaperonů Hsc70, Hsp70 a Hsp90 a kochaperonu Hsp40, které jsou sem redistribuovány z jiných částí buňky, obsahují tyto domény 26S proteasom a ubiquitinované proteiny. Ve foci se nenachází žádné strukturální či virové DNA vazebné proteiny, nicméně nachází se zde frakce portálového proteinu UL6 (Burch and Weller, 2004). UL6 slouží pro zavzetí virové DNA do kapsid (Newcomb *et al.*, 2001). Buď je sem směřován pro zaujetí správné konformace a zformování portálové struktury, nebo je sem směřován k degradaci (Burch and Weller, 2004). Při infekci Varicella zoster virem se foci netvoří, Hsc70 a další chaperony jsou lokalizovány přímo v RTCs (Kyratsous and Silverstein, 2007).

Redistribuce chaperonů do VICE foci je závislá na syntéze bezprostředně časných proteinů (Burch and Weller, 2004; Livingston *et al.*, 2009). Čtyři z pěti bezprostředně časných proteinů jsou důležité regulátory virové genové exprese (Bastian *et al.*, 2010). Těmito proteiny jsou ICP0, ICP4 (homolog s latencí asociovaného proteinu ORF62p u VZV (Ohgiani *et al.*, 1998)), ICP22 a ICP27. Produkce těchto proteinů je nezbytná pro expresi opožděně časných genů a pozdních genů kódujících proteiny zodpovědné za syntézu virové DNA a strukturální proteiny (Bastian *et al.*, 2010).

Na tvorbě VICE se významně podílí proteiny ICP0, ICP27 a ICP22 (Burch and Weller, 2004; Li *et al.*, 2008; Bastian *et al.*, 2010). V případě VZV se na jaderné lokalizaci Hsc70 do RTCs podílí ORF62p (Ohgiani *et al.*, 1998; Kyratsous and Silverstein, 2007).

Pro úspěšnou replikaci HSV-1 je nezbytný Hsc70 (Li *et al.*, 2008). Jeho jaderná lokalizace a koncentrace ve VICE je významně ovlivněna ICP22 (Bastian *et al.*, 2010). ICP22 kolokalizuje do míst VICE spolu s Hsc70, Hsp70 a UL6 (Bastian *et al.*, 2010). Protein ICP0 zvyšuje efektivitu formování VICE. Napomáhá redistribuci chaperonů a 26S proteasomu do VICE (Burch and Weller, 2004). Poslední z bezprostředně časných proteinů HSV-1 podílejících se na formování VICE, ICP27, interaguje s Hsc70 a taktéž se podílí na jeho lokalizaci do VICE (Li *et al.*, 2008). ICP27 zároveň směřuje do míst replikace buněčnou RNA polymerázu II, která je zde v době intenzivní virové transkripce ubiquitinována a degradována (Dai-Ju *et al.*, 2006). Na tomto procesu se podílí Hsc70, protože funkční mutanty Hsc70 inhibovaly degradaci RNA polymerázy II v proteasomu (Li *et al.*, 2008).

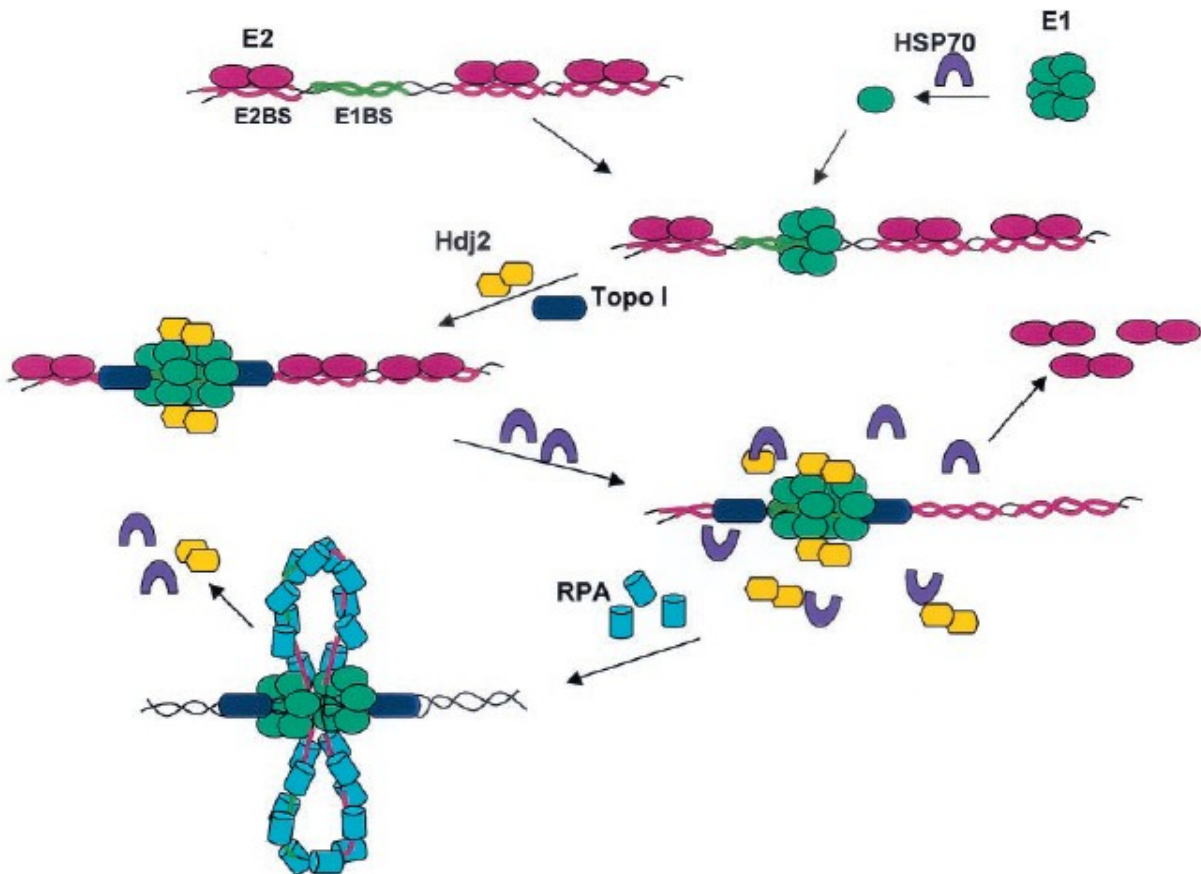
Dle dosavadních výsledků se dá předpokládat, že VICE slouží jako jaderné centrum kontroly kvality proteinů, kde probíhá skládání nově vznikajících proteinů, oprava špatně sbalených proteinů a degradace ubiquitinovaných substrátů. Zároveň se zdá být místem určeným k ukládání potenciálně cytotoxických proteinů i agregátů, které by ve větším množství vznikajícím v průběhu virové replikace mohly vyvolat apoptózu. V neposlední řadě zde dochází k degradaci hostitelských proteinů, které by mohly interferovat virovou replikací (Burch and Weller, 2004; Dai-Ju *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2008; Livingston *et al.*, 2009). Další funkce VICE a mechanismus zmíněných procesů musí být pro objasnění v budoucnu podroben dalšímu zkoumání.

### 5.2.2 Papillomaviridae

Papilomaviry využívají pro replikaci vlastní DNA kromě celulárních faktorů i vlastní proteiny, konkrétně E1 a E2. Oba proteiny jsou nezbytné pro iniciaci replikace DNA (Liu *et al.*, 1995). E1 je DNA vazebný protein s ATPasovou aktivitou (Seo *et al.*, 1993; Yang *et al.*, 1993; Liu *et al.*, 1995). Důležitá je jeho helikázová aktivita, která byla prokázána jak u E1 kravského papilomaviru (BPV) (Yang *et al.*, 1993), tak později u zástupců lidských papilomavirů (HPV) (Lin *et al.*, 2002). Protein E2 se váže na virovou DNA do míst E2BS lokalizované v počátku replikace (ori) a umožňuje proteinu E1 navázat se k E1BS vazebnému místu nacházejícího se také v ori, opět jak u HPV (Mohr *et al.*, 1990; Kuo *et al.*, 1994), tak u BPV (Yang *et al.*, 1991; Seo, Müller, Lusky, Gibbs, *et al.*, 1993). E2 je tedy nezbytný pro složení preiniciačního komplexu. Na složení preiniciačního komplexu a aktivaci helikázové aktivity E1 následované replikací DNA se podílí také buněčné chaperony Hsp70 a Hsp40 (konkrétně Hdj-2) (Liu *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 2002). To je podloženo i pozorováním, že jsou-li buňky vystaveny tepelnému šoku, zvýší se produkce inducibilních forem Hsp70 a dojde ke zvýšení efektivity virové replikace (Song *et al.*, 2010). První krok v procesu skládání preiniciačního komplexu, tedy vazba E2 k ori, je následována vazbou E1 k ori. E1 za účasti Hsp70 tvoří v místě ori hexamery a Hsp40 napomáhá formování dihexamerů, jež jsou dále Hsp40 stabilizovány (Liu *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 2002). Oba chaperony posilují vazbu E1 k replikačnímu počátku a působí nezávisle na sobě (Liu *et al.*, 1998). Hsp70 interaguje narozdíl od Hsp40 s E1 přechodně za spotřeby ATP, Hsp40 zůstává s E1 asociován a nevyžaduje ke své aktivitě ATP (Liu *et al.*, 1995, 1998). Asociace Hsp40 a



E1 je možná i bez přítomnosti ori (Liu *et al.*, 1998). Ačkoliv chaperony stimulují formaci E1 hexameru a dihexameru na ori, nejsou přítomny a vyžadovány po dobu helicázové aktivity v případě, že není současně přítomen E2 (Lin *et al.*, 2002). Protein E2 totiž inhibuje helicázovou aktivitu E1. Chaperony Hsp70 a Hdj2 tuto inhibici ruší nezávisle na ATP (Lin *et al.*, 2002). Vzhledem k tomu, že Hsp70, Hsp40 a E2 nejsou po iniciaci replikace v komplexu E1-ori přítomny, nejspíše dochází k vyvázování E2 z komplexu za asistence chaperonů (Obr. 7). Toto vyvázání je pravděpodobně mechanismem pro aktivaci helicázové aktivity E1 (Lin *et al.*, 2002). Každý E1 hexamer následně funguje jako aktivní helicáza (Lin *et al.*, 2002) a replikace probíhá obousměrně (Auborn *et al.*, 1994).



**Obrázek 7: Tvorba preiniciačního komplexu z proteinů E1 a E2 za asistence Hsp70 a Hsp40.** Protein E2 se váže na virovou DNA do místa E2BS lokalizované v ori. Tato vazba umožní proteinu E1 vázat se do E1BS vazebného místa. E1 tvoří v místě E1BS za přispění Hsp70 hexamery a Hsp40 (Hdj2) napomáhá formování dihexamerů. Protein E2 inhibuje helicázovou aktivitu E1. Poté co E1 disociuje, inhibice se ruší. Hsp70 také disociuje, ale Hsp40 zůstává s E1 asociován. Po iniciaci replikace disociuje i Hsp40. RPA - replikační protein A. Převzato a upraveno z: Lin *et al.*, 2002.

Chaperony Hsp40 a Hsp70 jsou tedy nedílnou součástí procesu skládání preiniciačního komplexu na ori DNA a následné iniciace replikace. Hsp70 napomáhá skládání monomerních či oligomerních E1 na ori do hexamerů, nebo umožňuje disociaci preformovaných oligomerů na monomery a zajišťuje jejich opětovnou asociaci s ori ve formě hexameru (Liu *et al.*, 1998; Lin *et al.*, 2002). Ačkoliv přesný mechanismus není zatím znám, role Hsp70 v tomto procesu je nepopiratelná. Hsp40 podporuje tvorbu a stabilizuje vznikající E1 dihexamery. Helicázová aktivita E1 hexamerů je posléze aktivována vyvázáním transkripčního aktivátoru E2 chaperony (Lin *et al.*, 2002).

## 5.3 Vliv na produkci proteinů a morfogenezi virových částic v pozdní fázi infekce

### 5.3.1 *Herpesviridae*

Lidský cytomegalovirus (HCMV) z čeledi *Herpesviridae* využívá BiP při skládání cytomegalovirového glykoproteinu (gB) (Zheng *et al.*, 1996). Tento protein zajišťuje fúzi virového obalu s cytoplazmou napadené buňky a šíření infekce mezi buňkami (Navarro *et al.*, 1993; Sharof *et al.*, 1994, 1995; Isaacson and Compton, 2009). Pokud je tento protein mutován na hydrofobním C-konci, dochází k tvorbě stabilních komplexů tohoto proteinu s endoplazmatickými chaperony včetně BiP. Tím je zabráněno jeho sekreci a transportu do Golgiho aparátu a odtud na povrch buňky (Zheng *et al.*, 1996). BiP se tedy podílí na skládání a kontrole kvality gB.

HCMV využívá BiP, kromě již zmíněné funkce ve skládání gB (Zheng *et al.*, 1996), i pro správnou maturaci virových částic (Buchkovich *et al.*, 2008, 2009). HCMV specificky reguluje hladiny BiP v buňce (Isler *et al.*, 2005; Buchkovich *et al.*, 2008, 2010a; Shi-Chen Ou *et al.*, 2011). Infekce virem je následována prudkým nárůstem množství BiP v buňce, jenž však není způsoben klasickým mechanismem UPR. HCMV reguluje a modifikuje UPR ve svůj prospěch a buněčné transkripční aktivátory genů pro BiP nejsou v době nárůstu množství BiP produkovány (Isler *et al.*, 2005). Tyto transkripční aktivátory spouští totiž kromě exprese BiP i expresi transkripčních aktivátorů genů, jejichž produkty se účastní degradace proteinů v rámci UPR. Takový proces by negativně ovlivnil virovou replikaci. Zvýšená hladina množství BiP udržuje komponenty aktivující UPR v ER v neaktivní formě. V důsledku toho nedochází k uvolnění a transportu transkripčních aktivátorů UPR do jádra a buňkou indukované expresi cílových genů (Isler *et al.*, 2005; Buchkovich *et al.*, 2010a). Přibližně 3 dny po infekci, tedy v pozdní fázi infekce, prudce klesá množství BiP na bazální úroveň a je aktivována UPR (Isler *et al.*, 2005).

HCMV reguluje zvýšení množství BiP v buňce na dvou úrovních. Hlavní bezprostředně časné protein (major immediate-early proteiny, MIE) aktivují promotor a tedy transkripci genů pro BiP (Buchkovich *et al.*, 2010a; Shi-Chen Ou *et al.*, 2011). Zároveň aktivují translaci z vnitřních míst pro vstup ribosomu (internal ribosome entry sites, IRES) na mRNA BiP (Buchkovich *et al.*, 2010a). Stejný mechanismus byl pozorován i u HSV-1 (Saffran *et al.*, 2010).

Nejvyšší množství BiP v buňce koreluje s fází syntézy a úprav virových strukturních proteinů a glykoproteinů. Nicméně odstranění BiP v době stabilně probíhající infekce má na syntézu proteinů malý vliv. Oproti tomu však inhibuje formování virionů. Kapsidy se akumulují v jádře a z vnější strany jaderné membrány, ale nepokračují dále do cytoplazmy, kde při normálním průběhu infekce dochází k tegumentaci a obalení nukleokapsid (Buchkovich *et al.*, 2008).

BiP se při infekci HCMV nachází v buňce ve dvou strukturách. První z nich je "assembly kompartment" a druhou kondenzované endoplazmatické retikulum na periferii buňky (Das *et al.*, 2007; Buchkovich *et al.*, 2009). Assembly kompartment se nachází v perinukleární oblasti a probíhá zde tegumentace a obalení virových částic (Sanchez *et al.*, 2000; Das *et al.*, 2007). Zde se BiP váže na virový protein TRS1 podílející se na skládání částic a protein pp28 (UL99) jež je výrazně zastoupen v tegumentové vrstvě (Capsids *et al.*, 2004; Jones and Lee, 2004; Buchkovich *et al.*, 2009; Buchkovich *et al.*, 2010b). Je možné, že se BiP podílí na jeho multimerizaci (Buchkovich *et al.*, 2009). Jádro při infekci HCMV získává

ledvinovitý tvar. Jaderná membrána je v konkávní oblasti s přiléhajícím assembly kompartmentem velmi tenká, jaderná lamina fosforylovaná a prostupná i pro velké molekuly. Na fosforylaci laminů se pravděpodobně podílí BiP v komplexu s virovým proteinem UL50 (Buchkovich *et al.*, 2010b). Odstranění BiP způsobí dekonenzaci ER, disociaci assembly kompartmentu a ztrátu specifické morfologie jádra (Buchkovich *et al.*, 2009; Buchkovich *et al.*, 2010b).

HCMV má v infikovaných buňkách cytoprotektivní efekt při odstranění BiP, ačkoliv replikace viru je inhibována. Odstranění BiP v neinfikovaných buňkách způsobí formování autofagosomů a sekundárních lyzozomů (Buchkovich *et al.*, 2008). U infikovaných buněk nedochází k žádným změnám v cytoplazmě. HCMV ovlivňuje buněčnou signalizaci a buňka nerozpozná odstranění BiP jako apoptický signál (Buchkovich *et al.*, 2008).

BiP je nenahraditelnou součástí procesů souvisejících s replikací HCMV. HCMV reguluje množství a lokalizaci BiP v buňkách a využívá ho pro modulaci buněčné signalizace, při skládání a tegumentaci virionů a pro ustavení a udržení pozměněné morfologie jádra vyhovující virové replikaci. Zároveň je BiP nedílnou součástí assembly kompartmentu a kondenzovaného endoplazmatického retikula, jelikož tyto struktury při odstranění BiP disociují a dekonenzují.

### 5.3.2 *Hepadnaviridae*

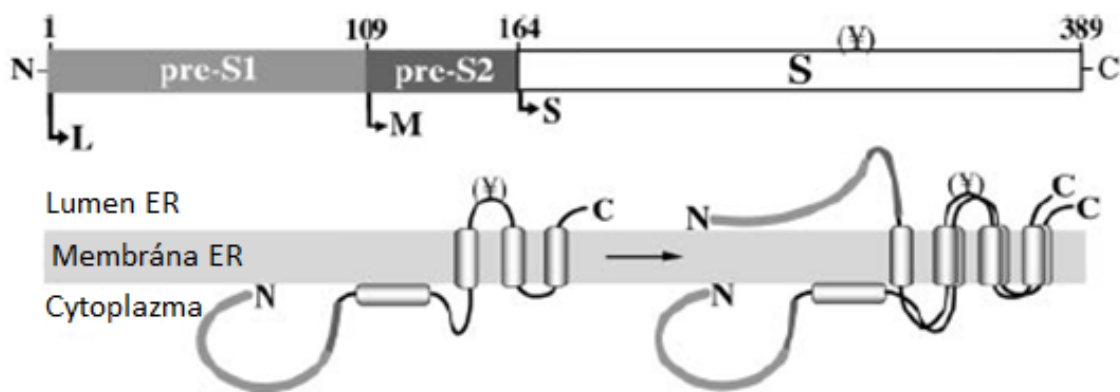
Virus hepatitidy B využívá pro produkci proteinů a následné skládání kapsid, několik typů chaperonů. Nejlépe prostudovaná je funkce Hsc70 a BiP. Kapsida viru hepatitidy B se skládá ze tří kapsidových proteinů; L proteinu ("large") skládajícího se ze dvou pre-S domén a S-domény, M proteinu ("middle") složeného z jedné pre-S domény a S-domény a S proteinu ("small") obsahujícího pouze S-doménu (Bruss, 2007). Hsc70 je nutný pro zaujetí správné topologie L proteinu (Prange *et al.*, 1999). Tento multifunkční protein mimo jiné umožňuje vazbu na receptory buněk při infekci (Gripon *et al.*, 2005) a zprostředkovává kontakt nukleokapsid s lipidovým obalem viru pocházejícím z endoplazmatického retikula při morfogenezi (Bruss and Ganem, 1991). Tyto procesy vyžadují smíšenou topologii L proteinu. Původně cytoplazmatické pre-S domény asociují u maturovaných virionů s nukleokapsidou a účastní se na jejím obalení, zatímco pre-S z lumen ER fungují jako povrchové receptory na obalu virové partikule (Bruss, 2007). Na zaujetí této topologie se podílí Hsc70 v komplexu s Hsp40 vazbou na N-terminální konec L proteinu obsahujícím pre-S doménu (Löffler-Mary *et al.*, 1997; Prange, Werr and Löffler-Mary, 1999; Lambert and Prange, 2003). Vazba Hsc70 a Hsp40 probíhá kontrtranslačně na cytoplazmatické straně ER. Pre-S obsahuje CAD (cytosol anchorage determinant), jehož delece umožní kontrtranslační translokaci pre-S do lumen ER. Bylo zjištěno, že mutanty s delecí CAD neváží Hsc70 (Prange *et al.*, 1999). Ke stejným výsledkům, ačkoliv odlišnými experimenty, došli i autoři recentnější studie (Lambert and Prange, 2003). Ti vložili na N-konec L proteinu odlišnou signální sekvenci, která způsobila jeho kontrtranslační translokaci do lumen ER, kde došlo k až čtyřnásobné *de novo* N-glykosylaci a zároveň nedocházelo k vzájemné interakci Hsc70 a L-proteinu (Lambert and Prange, 2003). Tato dvě nezávislá pozorování podpořily hypotézu, že se Hsc70 účastní procesu zajišťujícím smíšenou topologii L proteinu.

Následné experimenty tuto hypotézu potvrdily. Při overexpressi chaperonů Hsc70, Hip a Bag-1, jež modulují funkci Hsc70, byla potvrzena rozhodující role Hsc70 v ustavení topologie L proteinu. Hip

stabilizuje Hsc70-ADP a tudíž komplex Hsc70 a L proteinu (Höhfeld *et al.*, 1995), kdežto Bag-1 jakožto NEF podporuje uvolnění substrátu, tedy L proteinu, z komplexu s Hsc70 (Takayama *et al.*, 1997; Nollen *et al.*, 2000, 2001; Lambert and Prange, 2003). Při nadprodukcí Hip byl posttranslační transport pre-S domény do lumen ER téměř úplně inhibována, kdežto v případě nadprodukce Bag-1 docházelo k jevu opačnému. V důsledku nadprodukce Hip se současně významně snížila produkce virionů (Lambert and Prange, 2003), protože cytoplazmaticky lokalizované N-terminální domény L proteinu zprostředkovávají kontakt nukleokapsid s transmembránovými proteiny obalu (Bruss, 2007).

Při přirozeném průběhu infekce pre-S doména posttranslačně relokuluje do lumen endoplazmatického retikula u přibližně poloviny proteinů (Obr.8). Hsc70 podílí na zamezení kotranslační translokace pre-S do lumen retikula (Löffler-Mary *et al.*, 1997; Prange *et al.*, 1999; Lambert and Prange, 2003), čímž umožní následné obalení vznikajících nukleokapsid (Bruss, 2007) a je možné, že se podílí i na udržení pre-S domény ve stavu umožňujícím pozdější formování virionů či translokaci do lumen (Prange *et al.*, 1999; Lambert and Prange, 2001).

Dalším chaperonem podílejícím se na produkci proteinů a následné morfogenezi virionu HBV je chaperon BiP. Tento chaperon specificky asociuje s pre-S doménou L proteinu HBV *in vitro* a *in vivo* (Lambert and Prange, 2003; Awe *et al.*, 2008). Nadprodukce kochaperonů BAP nebo ERdj4 má za následek 50% inhibici posttranslační translokace preS do lumen ER (Awe *et al.*, 2008). V případě kochaperonu BAP, který jakožto NEF destabilizuje vazbu BiP na pre-S (Chung *et al.*, 2002), to není překvapivé. ERdj4, jež vazbu stabilizuje (Shen *et al.*, 2002), znemožňuje chaperonu BiP střídavě asociovat a disociovat od řetězce L proteinu, pročež BiP pozbývá schopnosti vtahovat doménu do lumen ER. K výrazné inhibici posttranslační translokace dochází i při depleci ATP. Tyto výsledky podporují hypotézu, že BiP, ve spolupráci s Hsc70, se významně podílí na maturaci L proteinu (Awe *et al.*, 2008). Vzhledem k tomu, že jednou z mnoha funkcí BiP je zamezit transportu nesbalených a nebo špatně sbalených proteinů a jejich agregátů z ER. (Hurtley *et al.*, 1989), je možné, že vazbou na L protein zamezuje jeho předčasné sekreci, dokud nezaujme správnou konformaci. K potvrzení či vyvrácení těchto hypotéz však bude potřeba provést navazující experimenty.



**Obrázek 8: Domény a membránová topologie L proteinu.** Nahoře: schématické znázornění domén, ze kterých se skládá L protein, M protein, S protein. Dole: Znázornění duální topologie L proteinu. *Vlevo*: kontrtranslační lokalizace pre-S domény na cytosolické straně membrány ER; *vpravo*: přibližně 50 % pre-S domén posttranslačně translokuje do lumen ER. Převzato a upraveno: Lambert and Prange, 2003.

### 5.3.3 *Papillomaviridae*

Papilomaviry jsou neobalené viry, jejichž kapsida je tvořena dvěma kapsidovými proteiny, L1 a L2. Hlavní kapsidový protein L1 se skládá do pentamerů, neboli kapsomer, a kapsida je tvořena 72 kapsomerami (Chen *et al.*, 2000; Modis *et al.*, 2002). Minoritní L2 protein se v kapsidě vyskytuje pravděpodobně ve 12 kopiích (Trus *et al.*, 1997; Becker *et al.*, 2004). Virové částice vstupují endocytózou zprostředkovanou klatrinem a je možné, že na rozvolnění kapsid po uvolnění z váčků se podílí chaperony Hsc70 a Hsp40 (Day *et al.*, 2003; Chromy *et al.*, 2006). Nově vznikající proteiny L2 a L1 jsou odděleně translokovány do jádra (Florin *et al.*, 2002). Zde se akumulují v promyelotických leukemických PML tělískách, v nichž probíhá replikace DNA a morfogeneze virionů (Rose *et al.*, 1993; Swindle *et al.*, 1999).

Expresí obou proteinů způsobí akumulaci Hsc70 v jádře. L2 tvoří v cytoplazmě s Hsc70 aktivní komplex, který je ovlivňován nadprodukcí kochaperonů (Hsp40, Hip, Bag-1). Následně kolokalizuje s Hsc70 do jádra, konkrétně do PML tělísek. Přidáním inhibitoru proteasomu dojde k přemístění Hsc70 do jádra, ale L2 protein zůstává v cytoplazmě a není efektivně transportován do jádra. Dochází k akumulaci L2 v perinukleární oblasti, kde tvoří agregáty. Je zřejmé, že Hsc70 a jeho ATPasová aktivita jsou esenciální pro translokaci L2 do jádra (Florin *et al.*, 2004).

Je-li tepelným šokem indukována v buňkách exprese indukibilní formy Hsp70 (Hsp70i), lokalizuje do jádra více L1 v porovnání s infikovanými buňkami bez stresových faktorů. To naznačuje vliv exprese Hsp70i na buněčnou lokalizaci L1 (Song *et al.*, 2010). V rozporu s tímto pozorováním byly výsledky dříve prováděné studie, kdy se neprokázal vliv inhibice proteasomu, a tedy relokace Hsc70 do jádra, na jadernou lokalizaci L1 (Florin *et al.*, 2004). Nelze vyloučit, že zde existuje regulace na další úrovni.

Morfogeneze papilomavirových kapsid probíhá v jádře. Protein L1 je však schopný samovolného skládání *in vitro* a za určitých podmínek *in vivo* v cytoplazmě (Kirnbauer *et al.*, 1992; Rose *et al.*, 1993). Za normálních podmínek se L1 nachází v cytoplazmě ve formě monomerů či kapsomer, aby mohl být transportován do jádra. Nicméně odstranění NLS způsobí tvorbu viru podobným částicím ("virus like particles") VLPs i bez nutnosti jaderné L1 (Rose *et al.*, 1993; Song *et al.*, 2010). Oproti tomu inkorporace L2 do kapsid vyžaduje jadernou lokalizaci (Becker *et al.*, 2004). Úlohou Hsp70/Hsc70i může být napomáhání integrace L2 do virových kapsid, udržováním takové konformace L2 či jeho domén, aby byla možná jeho asociace s kapsomerami či prosté stínění C-konce. Nechráněný C-konec L2 je totiž škodlivý pro virovou morfogenezi a Hsc70 od něj disociuje až ve chvíli, kdy je zcela inkorporován do kapsidy (Florin *et al.*, 2004). Zároveň se na něm nachází cytotoxická aktivita, protože se vazba Hsc70 do těchto míst jeví velmi pravděpodobnou (N. Kaemper *et al.*, nepublikovaná data). Přikloníme-li se k modelu, ve kterém Hsc70i asociuje s L1, můžeme uvažovat o roli chaperonu v prevenci předčasné asociace kapsomer v cytoplazmě, jež by zabránila transportu do jádra (Song *et al.*, 2010).

### 5.3.4 Polyomaviridae

Skládání virionů Polyomavirů probíhá v jádře, kam se z cytoplazmy transportují všechny tři kapsidové proteiny. Na rozdíl od Papilomavirů jsou kapsidové proteiny transportovány do jádra v komplexu Hsc70–pentamera VP1 s jednou molekulou minoritního proteinu VP2 nebo VP3 (Montross *et al.*, 1991; Forstova *et al.*, 1993; Soldatova *et al.*, 2018). Hsc70 v myších buňkách váže VP1, VP2 i VP3, při expresi VP1 a VP2 v hmyzích buňkách váže oba proteiny, v modelu *Escherichia coli* váže DnaK, homolog Hsc70, protein VP1 a *in vitro* dochází k asociaci se všemi třemi kapsidovými proteiny (Cripe *et al.*, 1995; Sainis *et al.*, 2000). V přítomnosti DnaK, DnaJ (homolog Hsc40) a GRpE (obdoba BAG-1) a ATP dochází *in vitro* ke skládání uniformních kapsid velmi podobných kapsidám vznikajícím *in vivo* (Chromy *et al.*, 2003). Stejně tak dochází ke skládání kapsid *in vitro* z pentamer VP1 asociovaných s VP3 v přítomnosti eukaryotických chaperonů a T antigenu viru SV40 (Chromy *et al.*, 2003). *In vivo* v pozdní fázi infekce je Hsc70 s VP1, VP2 a VP3 transportován do jádra (Cripe *et al.*, 1995). Stejně jako u Papilomavirů nenacházíme Hsc70 v polyomavirových kapsidách, tedy Hsc70 disociuje z komplexu s kapsidovými proteiny před a nebo během enkapsidace virové DNA (Cripe *et al.*, 1995; Florin *et al.*, 2004). Hsc70 hraje nezastupitelnou roli v pozdních fázích infekce, kdy přechodně váže kapsidové proteiny, brání složení kapsidy v cytoplazmě a účastní se transportu strukturních proteinů do jádra (Cripe *et al.*, 1995). V jádře se podílí na kontrole skládání kapsid a bylo prokázáno, že zajišťuje invazi C-terminální domény proteinu VP do sousední kapsomery (Cripe *et al.*, 1995; Chromy *et al.*, 2003). Je možné, že Hsc70 i vyvazuje nesprávně složené kapsidové proteiny, aby nebránily efektivní morfogenezi virionů (Cripe *et al.*, 1995).

### 5.3.5 Adenoviridae

Adenovirus využívá chaperon Hsp70 nejen při rozvolnění kapsid a transportu DNA do jádra, ale i v pozdní fázi infekce. V této fázi asociuje Hsp70 s frakcí adenovirového strukturního fiber proteinu (Macejak and Luftig, 1991). Adenovirus indukuje expresi genů kódujících Hsp70 a dalších proteinů tepelného šoku prostřednictvím transkripčních aktivátorů exprimovaných z časných genů E1A (Wu *et al.*, 1986; Simon *et al.*, 1987; Nevins, 1993). Existuje několik hypotéz, jakým způsobem přispívá tvorba komplexu Hsp70-fiber virové replikaci. Hsp70 může asociovat s nově vznikajícím proteinem za účelem správného sbalení proteinu a zabránění degradaci či agregaci, nebo naopak váže vadné proteiny a k degradaci je směřuje (Macejak and Luftig, 1991). Zároveň je možné, že zprostředkovává transport z cytoplazmy do jádra nebo do endoplazmatického retikula, vzhledem k tomu, že fiber protein je jediným adenovirovým strukturním glykosylovaným proteinem (Ishibashi and Maizel, 1974; Macejak and Luftig, 1991). Samozřejmě se může podílet i na skládání kapsid (Macejak and Luftig, 1991).

## 6 Závěr

Virové infekce jsou jednou z hlavních příčin úmrtí na světě. V současné době však existuje poměrně málo efektivních antivirových léčiv. Jednou z hlavních překážek při jejich vývoji je rychlý vznik rezistence virů. Většina antivirových léčiv totiž cílí na virové komponenty, jejichž mutagenese je pod kontrolou viru (Geller *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018). Proto se pozornost při vývoji terapeutik zaměřuje také na buněčné proteiny. Ideálním cílem těchto látek by mohly být molekulární chaperony.

Molekulární chaperony napomáhají skládání nově vznikajících i chybně sbalených proteinů, tvorbě multiproteinových komplexů a aktivních forem proteinů, umožňují transport proteinů, zabraňují jejich agregaci a nevratně špatně sbalené proteiny směřují k degradaci v proteasomu. Těchto vlastností využívají viry při své replikaci.

Hsc70 se podílí na aktivaci reverzní transkriptázy DHBV z čeledi *Hepadnaviridae* a napomáhá spolu s BiP zaujetí duální topologie L proteinu HBV z téže čeledi. L protein je nezbytný pro vazbu na receptory buněk při vstupu viru a zprostředkovává kontakt nukleokapsidy s lipidovým obalem viru. Adenovirus využívá Hsp70 a Hsc70 jak v časně fázi infekce při transportu částic do jádra, tak v pozdní fázi infekce, kdy Hsp70 váže kapsidový fiber protein za účelem stabilizace či transportu z cytoplazmy do jádra či ER. Hsp70 a Hsc70 jsou také nedílnou součástí multifunkčních VICE domén  $\alpha$  Herpesvirů, v nichž mimo jiné probíhá skládání translatovaných proteinů, oprava či degradace špatně sbalených proteinů, tedy procesy, jichž se chaperony Hsp70 v buňkách běžně účastní. Zástupce  $\gamma$  Herpesvirů, HCMV, reguluje v průběhu infekce množství BiP v ER a tím zabraňuje předčasné aktivaci UPR. Zároveň využívá BiP při skládání gB, při skládání a tegumentaci virových částic a pro udržení pozměněné morfologie jádra a kondenzovaného ER, jež přispívají virové replikaci. V případě Polyomavirů je Hsp70 spjat s transportem částic v časně a skládáním částic v pozdní fázi infekce. V časně fázi jsou BiP a Hsc70 spolu s dalšími buněčnými proteiny nepostradatelnou složkou nutnou pro transport rozvolněných kapsidů z ER do cytoplazmy. V pozdní fázi infekce váže Hsc70 kapsidové proteiny v cytoplazmě, brání tak jejich předčasnému skládání a účastní se jejich transportu do jádra, kde dochází k tvorbě virionů. Poslední virovou čeleď, jež jsem se v této práci v souvislosti s Hsp70 věnovala, je čeleď *Papillomaviridae*. Hsp70 spolu s Hsp40 umožňuje tvorbu preiniciačního komplexu složeného z virových proteinů E1 a E2 a následnou iniciaci replikace. V závěrečné fázi infekce zabraňuje Hsc70 předčasnému skládání kapsidů v cytoplazmě a asociuje s minoritním kapsidovým proteinem L2 za účelem jeho integrace do kapsidů či stínění jeho cytotoxického C-konce.

Chaperon Hsp90 je široce využíván viry z čeledi *Herpesviridae*. Účastní se transportu virových částic HSV-1 do jádra a po translaci virové polymerázy v cytoplazmě umožňuje její jaderný import za účelem replikace virové DNA. V případě EBV je nezbytný pro asociaci podjednotek virové polymerázy, jež je esenciální pro úspěšný transport polymerázy do jádra. Další způsob využití Hsp90 nacházíme u viru *Varicella zoster*. Tento virus využívá Hsp90 pro stabilizaci LAP Orf25p v průběhu lytické infekce. Hsp90 při lytické infekci lokalizuje do jádra a zamezuje transportu Orf25p z jádra do cytoplazmy, kde by došlo k jeho degradaci. Virům z čeledi *Hepadnaviridae* pomáhá Hsp90 nastolit a udržet zvýšenou koncentraci Hsc70 aktivované reverzní transkriptázy a účastní se morfogeneze virionů. Dalším virem kooperujícím při infekci s Hsp90 je virus *Vaccinia* z čeledi *Poxviridae*. Hsp90 asociuje s virosomy, tedy místy replikace tohoto viru.

Díky širokému využití buněčných komponent při virových infekcích by mohla být inhibice virové infekce prostřednictvím regulace těchto komponent a buněčných procesů slibným terapeutickým přístupem. Jelikož se však Hsp70 a Hsp90 účastní v buňkách mnoha klíčových procesů, jsou pro přežívání buněk esenciální. Jejich inhibitory, jako například geldanamycin v případě Hsp90 (Grenert *et al.*, 1997) a AB5 toxin u Hs70 (Paton *et al.*, 2006), proto vykazují vysokou toxicitu (Mayer, 2005; Stricher *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018). Zároveň jsou však účinné vůči širokému spektru virů a nevzniká vůči nim rezistence (Geller *et al.*, 2013).

Využívaným inhibitorem Hsp70 v léčbě HBV je oxymatine, který je efektivní i proti kmenům s rezistencí vůči lamivudinu inhibujícím virovou reverzní transkriptázu (Wang *et al.*, 2011). Inhibitory Hsp90 zaznamenaly úspěch při infekcích HSV-1, HSV-2 či EBV (Li *et al.*, 2004, 2012; Kawashima *et al.*, 2013) i v případě rezistentních kmenů HSV1 (Zhong *et al.*, 2014). Následný výzkum by se měl dále zaměřit i na další chaperony a tím pádem i na léčbu způsobenou zástupci jiných virových čeledí. Potenciálními cíli při léčbě virové infekce polyomavirů by mohly být DnaJ proteiny a jejich DnaK partneři zahrnující BiP, které se účastní transportu virové partikule z ER do cytoplazmy (Goodwin *et al.*, 2011). Stejně tak by se mohl výzkum zaměřit na kochaperony Hsp70 jakožto terapeutické cíle při papilomavirové infekci (Florin *et al.*, 2004).

Vývoj terapeutických prostředků proti Hsp90 či Hsp70 slibuje možnost využití proti širokému spektru virových infekcí bez rizika vzniku rezistence a mohl by být vítaným řešením v případě vypuknutí infekcí nových, doposud nepopsaných virů, než by se podařilo vyvinout specifickou antivirotickou léčbu.



## 7 Seznam literatury

- Ali M. M. U., Roe S. M., Vaughan C. K., Meyer P., Panaretou B., Piper P. W., Prodromou C. & Pearl L. H. (2006). Crystal structure of an Hsp90-nucleotide-p23/Sba1 closed chaperone complex. *Nature Communications*, 440(7087), 1013-1017
- Alvira S., Cuéllar J., Röhl A., Yamamoto S., Itoh H., Alfonso C., Rivas G., Buchner J. & Valpuesta J. M. (2014). Structural characterization of the substrate transfer mechanism in Hsp70/Hsp90 folding machinery mediated by Hop. *Nature Communications*, 5(5484), e.
- Amin-Wetzel N., Saunders R. A., Kamphuis M. J., Rato C., Preissler S., Harding H. P. & Ron D. (2017). A J-protein co-chaperone recruits BiP to monomerize IRE1 and repress the unfolded protein response. *Cell*, 171(7), 1625-1637.
- Auborn K. J., Little R. D., Platt T. H. K., Vaccariello M. A. & Schildkraut C. L. (1994). Replicative intermediates of human papillomavirus type 11 in laryngeal papillomas: site of replication initiation and direction of replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(15), 7340-7344.
- Awe K., Lambert C. & Prange R. (2008). Mammalian BiP controls posttranslational ER translocation of the hepatitis B virus large envelope protein. *FEBS Letters*, 582(21-22), 3179-3184.
- Ballinger C. A., Connel P., Wu X., Hu Z., Thompson L. J., Yin L. & Patterson C. (1999). Identification of CHIP, a novel tetratricopeptide repeat-containing protein that interacts with heat shock proteins and negatively regulates chaperone functions. *Molecular and Cellular Biology*, 19(6), 4535-4545.
- Bartenschlager R. & Schaller H. (1992). Hepadnaviral assembly is initiated by polymerase binding to the encapsidation signal in the viral RNA genome. *EMBO journal*, 11(9), 3413-3420.
- Bastian T. W., Livingston C. M., Weller S. K. & Rice S. A. (2010). Herpes Simplex Virus Type 1 immediate-early protein ICP22 is required for VICE domain formation during productive viral infection. *Journal of Virology*, 84(5), 2384-2394.
- Beck J. & Nassal M. (2003). Efficient Hsp90-independent *in vitro* activation by Hsc70 and Hsp40 of duck hepatitis B virus reverse transcriptase, an assumed Hsp90 client protein. *Journal of Biological Chemistry*, 278(38), 36128-36138.
- Becker K. A., Florin L., Sapp C., Maul G. G. & Sapp M. (2004). Nuclear localization but not PML protein is required for incorporation of the papillomavirus minor capsid protein L2 into virus-like particles. *Journal of Virology*, 78(3), 1121-1128.
- Beere H. M., Wolf B. B., Cain K., Mosser D. D., Mahboubi A., Kuwana T., Taylor P., Morimoto R. I., Cohen G. M. & Green D. R. (2000). Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nature Cell Biology*, 2(8), 469-475.
- Bercovich B., Stancovski I., Mayer A., Blumenfeld N., Laszlo A., Schwartz A. L. & Ciechanover A. (1997). Ubiquitin-dependent degradation of certain protein substrates *in vitro* requires the molecular chaperone Hsc70. *Journal of Biological Chemistry*, 272(14), 9002-9010.
- Bergelson J. M., Cunningham J. A., Droguett G., Kurt Jones E. A., Krithivas A., Hong J. S., Horwitz M. S., Crowell R. L. & Finberg R. W. (1997). Isolation of a common receptor for coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science*, 275(5304), 1320-1323.
- Bertelsen E. B., Zhou H. J., Lowry D. F., Flynn G. C. & Dahlquist F. W. (1999). Topology and dynamics of the 10 kDa C-terminal domain of DnaK in solution. *Protein science: a publication of the Protein Society*, 8(2), 343-354.
- Bertolotti A., Zhang Y. H., Hendershot L. M., Harding H. P. & Ron D. (2000). Dynamic interaction of BiP and ER stress transducers in the unfolded-protein response. *Nature Cell Biology*, 2(6), 326-332.
- \*Bruss V. (2007). Hepatitis B virus morphogenesis. *World journal of gastroenterology: WJG*, 13(1), 65-73.
- Bruss V. & Ganem D. (1991). The role of envelope proteins in hepatitis B virus assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(3), 1059-1063.
- Buchkovich N. J., Maguire T. G., Yu Y., Paton A. W., Paton J. C. & Alwine J. C. (2008). Human cytomegalovirus specifically controls the levels of the Endoplasmic reticulum chaperone BiP/GRP78, which is required for virion assembly. *Journal of Virology*, 82(1), 31-39.
- Buchkovich N. J., Maguire T. G., Paton A. W., Paton J. C. & Alwine J. C. (2009). The Endoplasmic reticulum chaperone BiP/GRP78 is important in the structure and function of the human cytomegalovirus assembly compartment. *Journal of Virology*, 83(22), 11421-11428.
- Buchkovich N. J., Yu Y. J., Pierciey F. J. & Alwine J. C. (2010). human cytomegalovirus induces the endoplasmic reticulum chaperone BiP through increased transcription and activation of translation by using the BiP internal ribosome entry site. *Journal of Virology*, 84(21), 11479-11486. A
- Buchkovich N. J., Maguire T. G. & Alwine J. C. (2010). Role of the Endoplasmic Reticulum chaperone BiP, SUN domain proteins, and dynein in altering nuclear morphology during human cytomegalovirus infection. *Journal of Virology*, 84(14), 7005-7017. B
- \*Buchner J. & Li J. (2013). Structure, Function and Regulation of the Hsp90 Machinery. *Biomedical Journal*, 36(3), 106-117.
- Burch A. D. & Weller S. K. (2004). Nuclear sequestration of cellular chaperone and proteasomal machinery during Herpes Simplex Virus Type 1 infection. *Journal of Virology*, 78(13), 7175-7185.
- Burch A. D. & Weller S. K. (2005). Herpes Simplex Virus Type 1 DNA polymerase requires the mammalian chaperone Hsp90 for proper localization to the nucleus. *Journal of Virology*, 79(16), 10740-10749.
- Adamo J. E., Schroer J. & Shenk (2004). Human Cytomegalovirus TRS1 protein is required for efficient assembly of DNA-containing capsids. *Journal of Virology*, 78(19), 10221-10229.
- Cohrs R. J., Barbour M. & Gilden D. H. (1996). Varicella-zoster virus (VZV) transcription during latency in human ganglia: detection of transcripts mapping to genes 21, 29, 62, and 63 in a cDNA library enriched for VZV RNA. *Journal of Virology*, 70(5), 2789-2796.

- Cripe T. P., Delos S. E., Estes P. A. & Garcea R. L.** (1995). *In vivo* and *in vitro* association of hsc70 with polyomavirus capsid proteins. *Journal of Virology*, 69(12), 7807–7813.
- Dai-Ju J. Q., Li L., Johnson L. A. & Sandri-Goldin R. M.** (2006). ICP27 interacts with the C-terminal domain of RNA polymerase II and facilitates its recruitment to herpes simplex virus 1 transcription sites, where it undergoes proteasomal degradation during infection. *Journal of Virology*, 80(7), 3567–3581.
- Dang C. V. & Lee W. M. F.** (1989). Nuclear and nucleolar targeting sequences of c-erb-A, c-myc, N-myc, p53, HSP70, and HIV tat proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 264(30), 18019–18023.
- Daniels R., Rusan N. M., Wadsworth P. & Hebert D. N.** (2006). SV40 VP2 and VP3 Insertion into ER Membranes Is Controlled by the Capsid Protein VP1: Implications for DNA Translocation out of the ER. *Molecular Cell*, 24(6), 955–966.
- Das S., Vasanji A. & Pellett P. E.** (2007). Three-Dimensional Structure of the Human Cytomegalovirus Cytoplasmic Virion Assembly Complex Includes a Reoriented Secretory Apparatus. *Journal of Virology*, 81(21), 11861–11869.
- Day P. M., Lowy D. R. & Schiller J. T.** (2003). Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology*, 307(1), 1–11.
- Deffit S. N. & Blum J. S.** (2016). A central role for HSC70 in regulating antigen trafficking and MHC class II presentation. *Molecular immunology*, 68(2), 85–88.
- Dorner A. J., Wasley L. C. & Kaufman R. J.** (1992). Overexpression of GRP78 mitigates stress induction of glucose regulated proteins and blocks secretion of selective proteins in Chinese hamster ovary cells. *EMBO Journal*, 11(4), 1563–1571.
- \*Dudek J., Benedix J., Cappel S., Greiner M., Jalal C., Muller L. & Zimmermann R.** (2009). Functions and pathologies of BiP and its interaction partners. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(9), 1556–1569.
- Dupzyk A., Williams J. M., Bagchi P., Inoue T. & Tsai B.** (2017). SGTA-dependent regulation of Hsc70 promotes cytosol entry of Simian Virus 40 from the Endoplasmic Reticulum. *Journal of Virology*, 91(12), 1–14.
- Engel S., Heger T., Mancini R., Herzog F., Kartenbeck J., Hayer A. & Helenius A.** (2011). Role of Endosomes in Simian Virus 40 Entry and Infection. *Journal of Virology*, 85(9), 4198–4211.
- Felts S. J., Owen B. A. L., Nguyen P. M., Trepel J., Donner D. B. & Toft D. O.** (2000). The hsp90-related protein TRAP1 is a mitochondrial protein with distinct functional properties. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(5), 3305–3312.
- Florin L., Sapp C., Streeck R. E. & Sapp M.** (2002). Assembly and translocation of Papillomavirus capsid proteins. *Journal of Virology*, 76(19), 10009–10014.
- Florin L., Becker K. A., Sapp C., Lambert C., Sirma H., Muller M., Streeck R. E. & Sapp M.** (2004). Nuclear translocation of Papillomavirus minor capsid protein L2 requires Hsc70. *Journal of Virology*, 78(11), 5546–5553.
- Forstova J., Krauzewicz N., Wallace S., Street A. J., Dilworth S. M., Beard S. & Griffin B. E.** (1993). Cooperation of structural proteins during late events in the life cycle of Polyomavirus. *Journal of Virology*, 67(3), 1405–1413.
- Gässler C. S., Wiederkehr T., Brehmer D., Bukau B., Mayer M. P.** (2001). Bag-1M Accelerates Nucleotide release for human Hsc70 and Hsp70 and can act concentration-dependent as positive and negative cofactor. *Journal of Biological Chemistry*, 276(35), 32538–32544.
- Geiger R., Andrichke D., Friebe S., Herzog F., Luisoni S., Heger T. & Helenius A.** (2011). BAP31 and BiP are essential for dislocation of SV40 from the endoplasmic reticulum to the cytosol. *Nature Cell Biology*, 13(11), 1305–1314.
- \*Geller R., Taguwa S. & Frydman J.** (2012). Broad action of Hsp90 as a host chaperone required for viral replication. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1823(3), 698–706.
- \*Gething M. J.** (1999). Role and regulation of the ER chaperone BiP. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 10(5), 465–472.
- Gilbert J., Ou W., Silver J. & Benjamin T.** (2006). Downregulation of protein disulfide isomerase inhibits infection by the mouse polyomavirus. *Journal of Virology*, 80(21), 10868–10870.
- Goodwin E. C., Lipovsky A., Inoue T., Magaldi T. G., Edwards A. P. B., Van Goor K. E. Y., Paton A. W., Paton J. C., Atwood W. J., Tsai B. & DiMaio D.** (2011). BiP and multiple DNAJ molecular chaperones in the Endoplasmic Reticulum Are Required For Efficient Simian Virus 40 Infection. *mBio*, 2(3), e00101–11.
- Graf C., Stankiewicz M., Kramer G. & Mayer M. P.** (2009). Spatially and kinetically resolved changes in the conformational dynamics of the Hsp90 chaperone machine. *EMBO Journal*, 28(5), 602–613.
- Greber U. F., Willetts M., Webster P. & Helenius A.** (1993). Stepwise dismantling of adenovirus-2 during entry into cells. *Cell*, 75(3), 477–486.
- Grenert J. P., Sullivan W. P., Faddens P., Haysteads T. A. J., Clark J., Mimnaugh E., Krutzsch H., Ochel H. J., Schulte T. W., Sausville E., Neckers L. M. & Toft D. O.** (1997). The amino-terminal domain of heat shock protein 90 (hsp90) that binds geldanamycin is an ATP/ADP switch domain that regulates Hsp90 conformation. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(16), 23843–23850.
- Griffith J. P., Griffith D. L., Rayment I., Murakami W. T. & Caspar D. L. D.** (1992). Inside polyomavirus at 25 Angstrom resolution. *Letters to Nature*, 355, 652–654.
- Grinfeld E. & Kennedy P. G. E.** (2004). Translation of varicella-zoster virus genes during human ganglionic latency. *Virus Genes*, 29(3), 317–319.
- Gripon P., Cannie I. & Urban S.** (2005). Efficient inhibition of Hepatitis B virus infection by acylated peptides derived from the large viral surface protein. *Journal of Virology*, 79(3), 1613–1622.
- Haas I. G. & Wabl M.** (1983). Immunoglobulin heavy chain binding protein. *Nature*, 306(5941), 387–389.
- Harding H. P., Zhang Y. H., Bertolotti A., Zeng H. Q. & Ron D.** (2000a). Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Molecular Cell*, 5(5), 897–904.
- Harding H. P., Novoa L., Zhang Y. H., Zeng H. Q., Wek R., Schapira M. & Ron D.** (2000b). Regulated translation initiation

controls stress-induced gene expression in mammalian cells. *Molecular Cell*, 6(5), 1099–1108.

**Harding H. P., Zhang Y. H. & Ron D.** (1999). Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic- reticulum-resident kinase. *Nature*, 397(6716), 271–274.

**Harrison C. J., Hayer-Hartl M., Liberto D. M., Hartl, F. U. & Kuriyan, J.** (1997). Crystal Structure of the Nucleotide Exchange Factor GrpE Bound to the ATPase Domain of the Molecular Chaperone DnaK. *Science*, 276, 431–435.

**Helmbrecht K. & Rensing L.** (1999). Different constitutive heat shock protein 70 expression during proliferation and differentiation of rat C6 glioma cells. *Neurochemical research*, 24(10), 1293–1299.

**Hessling M., Richter K. & Buchner J.** (2009). Dissection of the ATP-induced conformational cycle of the molecular chaperone Hsp90. *Nature Structural and Molecular Biology*, 16(3), 287–293.

**Higgs H. N. & Peterson K. J.** (2005). ERdj3, a stress-inducible endoplasmic reticulum DnaJ homologue, serves as a cofactor for BiP's interactions with unfolded substrates. *Molecular biology of the cell*, 16(1), 1–13.

**Höfeld J., Minami Y. & Hartl F. U.** (1995). Hip, a novel cochaperone involved in the eukaryotic hsc70/hsp40 reaction cycle. *Cell*, 83(4), 589–598.

**Höfeld J. & Jentsch S.** (1997). GrpE-like regulation of the Hsc70 chaperone by the anti-apoptotic protein BAG-1. *EMBO Journal*, 16(20), 6209–6216.

**Hu J. M., Toft D., Anselmo D. & Wang X. T.** (2002). *In vitro* reconstitution of functional hepadnavirus reverse transcriptase with cellular chaperone proteins. *Journal of Virology*, 76(1), 269–279.

**Hu J. M., Toft D. O. & Seeger C.** (1997). Hepadnavirus assembly and reverse transcription require a multi-component chaperone complex which is incorporated into nucleocapsids. *EMBO Journal*, 16(1), 59–68.

**Hu J. M. & Seeger C.** (1996). Hsp90 is required for the activity of a hepatitis B virus reverse transcriptase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(3), 1060–1064.

**Huérffano S., Ryabchenko B., Spanielova H. & Forstova J.** (2017). Hydrophobic domains of mouse polyomavirus minor capsid proteins promote membrane association and virus exit from the ER. *FEBS Journal*, 284(6), 883–902.

**Hung J.-J., Chung, C.-S. & Chang, W.** (2002). Molecular chaperone Hsp90 is important for vaccinia virus growth in cells. *Journal of Virology*, 76(3), 1379–1390.

**Hurtley S. M., Bole D. G., Hooverlitty H., Helenius A. & Copeland C. S.** (1989). Interactions of misfolded influenza virus hemagglutinin with binding protein (BiP). *Journal of Cell Biology*, 108(6), 2117–2126.

**\*Chen B., Piel W. H., Gui L. M., Bruford E. & Monteiro A.** (2005). The HSP90 family of genes in the human genome: Insights into their divergence and evolution. *Genomics*, 86(6), 627–637.

**Chen S. & Smith D. F.** (1998). Hop as an adaptor in the heat shock protein 70 (Hsp70) and Hsp90 chaperone machinery. *Journal of Biological Chemistry*, 273(52), 35194–35200.

**Chen X. J. S., Garcea R. L., Goldberg L., Casini G. & Harrison S. C.** (2000). Structure of small virus-like particles assembled from the L1 protein of human papillomavirus 16. *Molecular cell*, 5(3), 557–567.

**Chen X. J. S., Stehle T. & Harrison S. C.** (1998). Interaction of polyomavirus internal protein VP2 with the major capsid protein VP1 and implications for participation of VP2 in viral entry. *EMBO Journal*, 17(12), 3233–3240.

**Chromy L. R., Oltman A., Estes P. A. & Garcea R. L.** (2006). Chaperone-mediated *in vitro* disassembly of Polyoma- and Papillomaviruses. *Journal of Virology*, 80(10), 5086–5091.

**Chromy L. R., Pipas J. M. & Garcea R. L.** (2003). Chaperone-mediated *in vitro* assembly of Polyomavirus capsids. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(18), 10477–10482.

**Chung K. T., Shen Y. & Hendershot L. M.** (2002). BAP, a mammalian BiP-associated protein, is a nucleotide exchange factor that regulates the ATPase activity of BiP. *Journal of Biological Chemistry*, 277(49), 47557–47563.

**Inoue T. & Tsai B.** (2015). A nucleotide exchange factor promotes endoplasmic reticulum-to-cytosol membrane penetration of the Nonenveloped virus Simian Virus 40. *Journal of Virology*, 89(8), 4069–4079.

**Isaacson M. K. & Compton T.** (2009). Human cytomegalovirus glycoprotein B is required for virus entry and cell-to-cell spread but not for virion attachment, assembly, or egress. *Journal of Virology*, 83(8), 3891–3903.

**Ishibashi M. & Maizel J. V.** (1974). The polypeptides of adenovirus: VI. Early and late glycopolypeptides. *Virology*, 58(2), 345–361.

**Isler J. A., Skalet A. H. & Alwine J. C.** (2005). Human Cytomegalovirus infection activates and regulates the unfolded protein response. *Journal of Virology*, 79(11), 6890–6899.

**Jakob U., Lilie H., Meyer I. & Buchner J.** (1995). Transient interaction of Hsp90 with early unfolding intermediates of citrate synthase: Implications for heat shock *in vivo*. *Journal of Biological Chemistry*, 270(13), 7288–7294.

**Jiang J. W., Prasad K., Lafer E. M. & Sousa R.** (2005). Structural basis of interdomain communication in the Hsc70 chaperone. *Molecular Cell*, 20(4), 513–524.

**Jindal S. & Young R. A.** (1992). Vaccinia virus infection induces a stress response that leads to association of Hsp70 with viral proteins. *Journal of Virology*, 66(9), 5357–5362.

**Johnson B. D., Schumachers R. J., Ross E. D. & Toft D. O.** (1998). Hop modulates hsp70/hsp90 interactions in protein folding. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(6), 3679–3686.

**Jones T. R. & Lee S. W.** (2004). An acidic cluster of human cytomegalovirus UL99 tegument protein is required for trafficking and function. *Journal of Virology*, 78(3), 1488–1502.

**Ju H. Q., Xiang Y. F., Xin B. J., Pei Y., Lu J. X., Wang Q. L., Xia M., Qian C. W., Ren Z., Wang S. Y., Wang Y. F., Xian G. W.** (2011). Synthesis and *in vitro* anti-HSV-1 activity of a novel Hsp90 inhibitor BJ-B11. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 21(6), 1675–1677.

**Kabani M., McLellan C., Raynes D. A., Guerriero V. & Brodsky J. L.** (2002). HspBP1, a homologue of the yeast Fes1 and

Sls1 proteins, is an Hsc70 nucleotide exchange factor. *FEBS Letters*, 531(2), 339–342.

\***Kampinga H. H. & Craig E. A.** (2010). The Hsp70 chaperone machinery: J-proteins as drivers of functional specificity. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 25(8), 713–724.

**Kanelakis K. C., Murphy P. J. M., Galigniana M.D., Morishima Y., Takayama S., Reed J. C., Toft D. O. & Pratt W. B.** (2000). Hsp70 Interacting protein hip does not affect glucocorticoid receptor folding by the hsp90-based chaperone machinery except to oppose the effect of BAG-1. *Biochemistry*, 39(46), 14314–14321.

**Kang H., Yu J. & Jung G.** (2008). Phosphorylation of hepatitis B virus core C-terminally truncated protein (Cp149) by PKC increases capsid assembly and stability. *The Biochemical journal*, 416(1), 47–54.

**Kartenbeck J., Haven N. & Cancer G.** (1989). Endocytosis of Simian Virus 40 into the Endoplasmic Reticulum. *The Journal of Cell Biology*, 109(6), 2721–2729.

**Kawashima D., Kanda T., Murata T., Saito S., Sugimoto A., Narita Y. & Tsurumi T.** (2013). Nuclear transport of Epstein-Barr virus DNA polymerase is dependent on the BMRF1 polymerase processivity factor and molecular chaperone Hsp90. *Journal of Virology*, 87(11), 6482–6491.

**Kim Y. S., Seo H. W. & Jung G.** (2015). Reactive oxygen species promote heat shock protein 90-mediated HBV capsid assembly. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 457(3), 328–333.

**Kirnbauer R., Booy F., Cheng N. & Schiller J. T.** (1992). Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Medical Sciences*, 89(24), 12180–12184.

**Kodiha M., Chu A., Lazrak O. & Stochaj U.** (2005). Protein and Vesicle Trafficking Stress inhibits nucleocytoplasmic shuttling of heat shock protein hsc70. *Am J Physiol Cell Physiol*, 289(4), 1034–1041.

**Kravats A. N., Hoskins J. R., Reidy M., Johnson J. L., Doyle S. M., Genest O., Masison D. C. & Wickner S.** (2018). Functional and physical interaction between yeast Hsp90 and Hsp70. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(10), 2210–2219.

**Kuo S. R., Liu J. S., Broker T. R. & Chow L. T.** (1994). Cell-free replication of the human papillomavirus DNA with homologous viral E1 and E2 proteins and human cell extracts. *The Journal of biological chemistry*, 269(39), 24058–24065.

**Kyratsous C. A. & Silverstein S. J.** (2007). BAG3, a Host Cochaperone, Facilitates Varicella-Zoster Virus Replication. *Journal of Virology*, 81(14), 7491–7503.

**Laloraya S., Dekker P. J. T., Voos W., Craig E. A. & Pfanner N.** (1995). Mitochondrial GrpE modulates the function of matrix Hsp70 in translocation and maturation of preproteins. *Molecular and cellular biology*, 15(12), 7098–7105.

**Lambert C. & Prange R.** (2001). Dual topology of the hepatitis B virus large envelope protein. Determinants influencing post-translational pre-S translocation. *Journal of Biological Chemistry*, 276(25), 22265–22272.

**Lambert C. & Prange R.** (2003). Chaperone action in the posttranslational topological reorientation of the hepatitis B virus large envelope protein: Implications for translocational regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(9), 5199–5204.

**Langer T., Rosmus S. & Fasold H.** (2003). Intracellular localization of the 90 kDa heat shock protein (HSP90 $\alpha$ ) determined by expression of a EGFP-HSP90 $\alpha$ -fusion protein in unstressed and heat stressed 3T3 cells. *Cell Biology International*, 27(1), 47–52.

**Lee C. T., Graf Ch., Mayer F. J., Richter S. M. & Mayer M. P.** (2012). Dynamics of the regulation of Hsp90 by the co-chaperone Sti1. *EMBO Journal*, 31(6), 1518–1528.

**Li L., Johnson L. A., Dai-Ju J. Q. & Sandri-Goldin R. M.** (2008). Hsc70 focus formation at the periphery of HSV-1 transcription sites requires ICP27. *PLoS ONE*, 3(1), e1491.

**Li Y. H., Tao P. Z., Liu Y. Z. & Jiang J. D.** (2004). Geldanamycin, a Ligand of Heat Shock Protein 90, Inhibits the Replication of Herpes Simplex Virus Type 1 *In Vitro*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(3), 867–872.

**Li Y.H., Lu Q. N., Wang H. Q., Tao P. Z. & Jiang J. D.** (2012). Geldanamycin, a ligand of heat shock protein 90, inhibits herpes simplex virus type 2 replication both *in vitro* and *in vivo*. *The Journal of Antibiotics*, 65(10), 509–512.

**Liddington R. C., Yan Y., Moulai J., Sahli R., Benjamin T. L. & Harrison S. C.** (1991). Structure of simian virus 40 at 3.8-Å resolution. *Nature*, 354(6351), 278–284.

**Liebl D., Difato F., Hornikova L., Mannova P., Strokrova J. & Forstova J.** (2006). Mouse Polyomavirus Enters Early Endosomes, Requires Their Acidic pH for Productive Infection, and Meets Transferrin Cargo in Rab11-Positive Endosomes. *Journal of Virology*, 80(9), 4610–4622.

**Lin B. Y., Makhov A. M., Griffith J. D., Broker T. R. & Chow L. T.** (2002). Chaperone proteins abrogate inhibition of the human papillomavirus (HPV) E1 replicative helicase by the HPV E2 protein. *Molecular and cellular biology*, 22(18), 6592–6604.

**Liptak L. M., Uprichard S. L. & Knipe D. M.** (1996). Functional order of assembly of herpes simplex virus DNA replication proteins into prereplicative site structures. *Journal of Virology*, 70(3), 1759–1767.

**Liu J. S., Kuo S. R., Broker T. R. & Chow L. T.** (1995). The functions of human papillomavirus type 11 E1, E2, and E2C proteins in cell-free DNA replication. *The Journal of biological chemistry*, 270(45), 27283–27291.

**Liu J. S., Kuo S. R., Makhov A. M., Cyr D. M., Griffith J. D., Broker T. R. & Chow L. T.** (1998). Human Hsp70 and Hsp40 chaperone proteins facilitate human papillomavirus-11 E1 protein binding to the origin and stimulate cell-free DNA replication. *Journal of Biological Chemistry*, 273(46), 30704–30712.

**Livingston C. M., Ifrim M. F., Cowan A. E. & Weller S. K.** (2009). Virus-induced chaperone-Enriched (VICE) domains function as nuclear protein quality control centers during HSV-1 infection. *PLoS pathogens*, 5(10), e1000619.

**Locker J. K. & Griffiths G.** (1999). An unconventional role for cytoplasmic disulfide bonds in Vaccinia Virus proteins. *The Journal of Cell Biology*, 144(2), 267–279.

**Löffler-Mary H., Werr M. & Prange R.** (1997). Sequence-specific repression of cotranslational translocation of the hepatitis B virus envelope proteins coincides with binding of heat shock protein Hsc70. *Virology*, 235(1), 144–152.

- Loregian A., Piaia E., Cancellotti E., Papini E., Marsden H. S. & Palu G.** (2000). The catalytic subunit of herpes simplex virus type 1 DNA polymerase contains a nuclear localization signal in the UL42-binding region. *Virology*, 273(1), 139–148.
- Lungu O., Panagiotidis C. A., Annunziato P. W., Gershon A. A. & Silverstein S. J.** (1998). Aberrant intracellular localization of Varicella-Zoster virus regulatory proteins during latency. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(12), 7080–7085.
- Macejak D. G. & Luftig R. B.** (1991). Association of HSP70 with the adenovirus type 5 fiber protein in infected HEp-2 cells. *Virology*, 180(1), 120–125.
- Magnuson B., Rainey E. K., Benjamin T., Baryshev M., Mkrtchian S. & Tsai B.** (2005). ERp29 triggers a conformational change in polyomavirus to stimulate membrane binding. *Molecular Cell*, 20(2), 289–300.
- Mannová P. & Forstová J.** (2003). Mouse polyomavirus utilizes recycling endosomes for a traffic pathway independent of COPI vesicle transport. *Journal of Virology*, 77(3), 1672–1681.
- Maruya M., Sameshima M., Nemoto T. & Yahara I.** (1999). Monomer arrangement in HSP90 dimer as determined by decoration with N and C-terminal region specific antibodies. *Journal of Molecular Biology*, 285(3), 903–907.
- \*Mayer M. P.** (2005). Recruitment of Hsp70 chaperones: A crucial part of viral survival strategies. *Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology*, 153, 1–46.
- \*Mayer M. P. & Le Breton L.** (2015). Hsp90: Breaking the symmetry. *Molecular Cell*, 58(1), 8–20.
- McClellan A. J., Scott M. D. & Frydman J.** (2005). Folding and quality control of the VHL tumor suppressor proceed through distinct chaperone pathways. *Cell*, 121(5), 739–748.
- McLaughlin S. H., Smith H. W. & Jackson S. E.** (2002). Stimulation of the weak ATPase activity of human Hsp90 by a client protein. *Journal of Molecular Biology*, 315(4), 787–798.
- Meacham G. C., Patterson C., Zhang W., Younger J. M. & Cyr D. M.** (2001). The Hsc70 co-chaperone CHIP targets immature CFTR for proteasomal degradation. *Nature Cell Biology*, 3(1), 100–105.
- Melnick J., Dul J. L. & Argon Y.** (1994). Sequential interaction of the chaperones BiP and GRP94 with immunoglobulin chains in the endoplasmic reticulum. *Nature*, 370(6488), 373–375.
- Meyer P., Prodromou Ch., Liao Ch, Hu B., Roe S. M., Vaughan C. K., Vlasic I., Panaretou B., Piper P. W. & Pearl L. H.** (2004). Structural basis for recruitment of the ATPase activator Aha1 to the Hsp90 chaperone machinery. *EMBO Journal*, 23(3), 511–519.
- Mickler M., Hessling M., Ratzke Ch., Buchner J. & Hugel T.** (2009). The large conformational changes of Hsp90 are only weakly coupled to ATP hydrolysis. *Nature Structural and Molecular Biology*, 16(3), 281–286.
- Mizzen L. A., Chang C. & Welch W. J.** (1989). Identification, characterization, and purification of two mammalian stress proteins present in mitochondria, grp 75, a member of the hsp 70 family and hsp 58, a homolog of the bacterial groEL protein. *Journal of Biological Chemistry*, 264(34), 20664–20675.
- Modis Y., Trus B. L. & Harrison S. C.** (2002). Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO Journal*, 21(18), 4754–4762.
- Mohr I. J., Clark R., Sun S., Androphy E. J., MacPherson P. & Botchan M. R.** (1990). Targeting the E1 replication protein to the papillomavirus origin of replication by complex formation with the E2 transactivator. *Science*, 250(4988), 1694–1699.
- Montross L., Watkins S., Moreland R. B., Mamon H., Caspar D. L. D. & Garcea R. L.** (1991). Nuclear assembly of Polyomavirus capsids in insect cells expressing the major capsid protein VP1. *Journal of Virology*, 65(9), 4991–4998.
- Munro S. & Pelham H. R. B.** (1986). An hsp70-like protein in the ER: Identity with the 78 kd glucose-regulated protein and immunoglobulin heavy chain binding protein. *Cell*, 46(2), 291–300.
- Nakanishi A., Clever J., Yamada M. Li P. P. & Kasamatsu H.** (1996). Association with capsid proteins promotes nuclear targeting of simian virus 40 DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(1), 96–100.
- Nakanishi A., Shum D., Morioka H., Otsuka E. & Kasamatsu H.** (2002). Interaction of the Vp3 nuclear localization signal with the importin alpha 2/beta heterodimer directs nuclear entry of infecting simian virus 40. *Journal of Virology*, 76(18), 9368–9377.
- Nathan D. F., Vos M. H. & Indquist S.** (1997). *In vivo* functions of the *Saccharomyces cerevisiae* Hsp90 chaperone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 12949–56.
- Navarro D., Paz P., Tugizov S., Topp K., Lavail J. & Pereira L.** (1993). Glycoprotein B of human cytomegalovirus promotes virion penetration into cells, transmission of infection from cell to cell, and fusion of infected cells. *Virology*, 197(1), 143–158.
- Nelson C. D. S., Derdowski A., Maginnis M. S., O'Hara B. A. & Atwood W. J.** (2012). The VP1 subunit of JC polyomavirus recapitulates early events in viral trafficking and is a novel tool to study polyomavirus entry. *Virology*, 428(1), 30–40.
- Nevins J. R.** (1993). Transcriptional activation by the adenovirus E1A proteins. *Seminars in Virology*, 4(1), 25–31.
- Newcomb W. W., Juhas R. M., Thomsen D. R., Homa F. L., Burch A. D., Weller S. K. & Brown J. C.** (2001). The UL6 Gene Product Forms the Portal for Entry of DNA into the Herpes Simplex Virus Capsid. *Journal of Virology*, 75(22), 10923–10932.
- Niewiarowska J., D'Halluin J. C. & Belin M. T.** (1992). Adenovirus capsid proteins interact with HSP70 proteins after penetration in human or rodent cells. *Experimental Cell Research*, 201(2), 408–416.
- Nollen E. A. A., Brunsting J. F., Song J. H., Kampinga H. H. & Morimoto R. I.** (2000). Bag1 functions *in vivo* as a negative regulator of Hsp70 Chaperone Activity. *Molecular and Cellular Biology*, 20(3), 1083–1088.
- Nollen E. A. A., Kabakov A. E., Brunsting J. F., Kanon B., Hohfeld J. & Kampinga H. H.** (2001). Modulation of *in vivo* HSP70 Chaperone activity by Hip and Bag-1. *Journal of Biological Chemistry*, 276(7), 4677–4682.
- Norkin L. C., Anderson H. A., Wolfrom S. A. & Oppenheim A.** (2002). Caveolar endocytosis of simian virus 40 is followed by brefeldin A-sensitive transport to the endoplasmic reticulum, where the virus disassembles. *Journal of Virology*, 76(10), 5156–5166.
- Ohgihara E., Kobayashi K., Takeshita K. & Imanishi J.** (1998). Induced expression and localization to nuclear-inclusion bodies of hsp70 in varicella-zoster virus-infected human diploid fibroblasts. *Microbiology and Immunology*, 42(11), 755–760.

- \***Olzmann J. A., Kopito R. R. & Christianson J. C.** (2013). The mammalian endoplasmic reticulum-associated degradation system. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 77(2), 431–435.
- Packschies L., Theyssen H., Buchberger A., Bukau B., Goody R. S. & Reinstein J.** (1997). GrpE accelerates nucleotide exchange of the molecular chaperone DnaK with an associative displacement mechanism. *Biochemistry*, 36(12), 3417–3422.
- Panaretou B., Prodromou Ch., Roe S. M., O'Brien R., Ladbury J. E., Piper P. W. & Pearl L. H.** (1998). ATP binding and hydrolysis are essential to the function of the Hsp90 molecular chaperone *in vivo*. *EMBO Journal*, 17(16), 4829–4836.
- Panaretou B., Siligardi G., Meyer P., Maloney A., Sullivan J. K., Singh S., Millson S. H., Clarke P. A., Naaby-Hansen S., Stein R., Cramer R., Mollapour M., Workman P, Piper P. W., Pearl L. H., & Prodromou Ch.** (2002). Activation of the ATPase activity of Hsp90 by the stress-regulated cochaperone Aha1. *Molecular Cell*, 10(6), 1307–1318.
- Paton A. W., Srimanote P., Talbot U. M., Wang H. & Paton J. C.** (2004). A New Family of Potent AB<sub>5</sub> Cytotoxins Produced by Shiga Toxigenic *Escherichia coli*. *The Journal of Experimental Medicine*, 200(1), 35–46.
- \***Pelham H.** (1985). Activation of heat-shock genes in eukaryotes. *Trends in Genetics*, 1(C), 31–35.
- Polier S., Dragovic Z., Hartl F. U. & Bracher A.** (2008). Structural Basis for the Cooperation of Hsp70 and Hsp110 Chaperones in Protein Folding. *Cell*, 133(6), 1068–1079.
- Prange R., Werr M. & Löffler-Mary H.** (1999). Chaperones involved in hepatitis B virus morphogenesis. *Biological Chemistry*, 380(3), 305–314.
- Prodromou C., Roe S. M., Piper P. W. & Pearl L. H.** (1997). A molecular clamp in the crystal structure of the N-terminal domain of the yeast Hsp90 chaperone. *Nature Structural Biology*, 4(6), 477–482. *A*
- Prodromou C., Roe S. M., O'Brien R., Ladbury J. E., Piper P. W. & Pearl L. H.** (1997). Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone. *Cell*, 90(1), 65–75. *B*
- Prodromou C., Siligardi G., O'Brien R., Woolfson D. N., Regan L., Panaretou B., Ladbury J. E., Piper P. W. & Pearl L. H.** (1999). Regulation of Hsp90 ATPase activity by tetratricopeptide repeat (TPR)-domain co-chaperones. *EMBO Journal*, 18(3), 754–762.
- Prodromou C., Panaretou B., Chohan S., Siligardi G., O'Brien R., Ladbury J. E., Roe S. M., Piper P. W. & Pearl L.H.** (2000). The ATPase cycle of Hsp90 drives a molecular “clamp” via transient dimerization of the N-terminal domains. *The EMBO journal*, 19(16), 4383–4392.
- Rainey-Barger E. K., Magnuson B. & Tsai B.** (2007). A Chaperone-Activated Nonenveloped Virus Perforates the Physiologically Relevant Endoplasmic Reticulum Membrane. *Journal of Virology*, 81(23), 12996–13004.
- Ratzke C., Mickler M., Hellenkamp B., Buchner J. & Hugel T.** (2010). Dynamics of heat shock protein 90 C-terminal dimerization is an important part of its conformational cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(37), 16101–16106.
- Ravindran M. S., Bagchi P., Inoue T. & Tsai B.** (2015). A non-enveloped virus hijacks host disaggregation machinery to translocate across the endoplasmic reticulum membrane. *PLoS Pathogens*, 11(8), 1–28.
- Rayment I., Baker T. S., Caspar D. L. D. & Murakami W. T.** (1982). Polyoma virus capsid structure at 22.5 Å resolution. *Nature*, 295(5845), 110–115.
- Richter K., Muschler P., Hainzl O. & Buchner J.** (2001). Coordinated ATP Hydrolysis by the Hsp90 Dimer. *Journal of Biological Chemistry*, 276(36), 33689–33696.
- Richter K., Soroka J., Skalniak L., Leskovaar A., Hessling M., Reinstein J. & Buchner J.** (2008). Conserved conformational changes in the ATPase cycle of human Hsp90. *Journal of Biological Chemistry*, 283(26), 17757–17765.
- Richter K., Reinstein J. & Buchner J.** (2002). N-terminal residues regulate the catalytic efficiency of the Hsp90 ATPase cycle. *Journal of Biological Chemistry*, 277(47), 44905–44910.
- Röhl A., Wengler D., Madl T., Lagleder S., Tippel F., Herrmann M., Hendrix J., Richter K., Hack G., Schmid A. B., Kessler H., Lamb D. C. & Buchner J.** (2015). Hsp90 regulates the dynamics of its cochaperone Sti1 and the transfer of Hsp70 between modules. *Nature Communications*, 6(6655), e.
- Rose R. C., Bonnez W., Reichman R. C. & Garcea R. L.** (1993). Expression of human papillomavirus type 11 L1 protein in insect cells: *in vivo* and *in vitro* assembly of viruslike particles. *Journal of Virology*, 67(4), 1936–1944.
- Saffran H. A., Read G. S. & Smiley J. R.** (2010). Evidence for translational regulation by the herpes simplex virus virion host shutoff protein. *Journal of Virology*, 84(12), 6041–6049.
- Sainis L., Angelidis C., Pagoulatos G. N. & Lazaridis I.** (2000). HSC70 interactions with SV40 viral proteins differ between permissive and nonpermissive mammalian cells. *Cell stress & chaperones*, 5(2), 132–138.
- Sanchez V., Greis K. D., Sztul E. & Britt W. J.** (2000). Accumulation of virion tegument and envelope proteins in a stable cytoplasmic compartment during human cytomegalovirus replication: characterization of a potential site of virus assembly. *Journal of Virology*, 74(2), 975–986.
- Saphire A. C., Guan T., Schirmer E. C., Nemerow G. R. & Gerace L.** (2000). Nuclear import of adenovirus DNA *in vitro* involve the nuclear protein import pathway and Hsc70. *Journal of Biological Chemistry*, 275(6), 4298–4304.
- Sedger L., Ramshaw I., Condie A., Medveczky J., Braithwaite A. & Ruby J.** (1996). Vaccinia virus replication is independent of cellular HSP72 expression which is induced during virus infection. *Virology*, 225(2), 423–427.
- Seo Y. S., Müller F., Lusky M. & Hurwitz J.** (1993). Bovine papilloma virus (BPV)-encoded E1 protein contains multiple activities required for BPV DNA replication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(2), 702–706.
- Seo Y. S., Müller F., Lusky M., Gibbs E., Kim H. Y., Phillips B. & Hurwitz J.** (1993). Bovine papilloma virus (BPV)-encoded E2 protein enhances binding of E1 protein to the BPV replication origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(7), 2865–2869.

- Severi T., Ying C. X., Vermeesch J. R., Cassiman D., Cnops L., Verslype C., Fevery J., Arckens L., Neyts J. & van Pelt J. F.** (2006). Hepatitis B virus replication causes oxidative stress in HepAD38 liver cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 290(1–2), 79–85.
- Sharof T., Navarro D., Paz P., Wang Y., Qadri I. & Pereira L.** (1994). Function of human cytomegalovirus glycoprotein B: syncytium formation in cells constitutively expressing gB is blocked by virus-neutralizing antibodies. *Virology*, 201(2), 263–276.
- Sharof L. T., Wang Y., Qadri I., Navarro D., Maidji E. & Pereira L.** (1995). Mutated forms of human cytomegalovirus glycoprotein B are impaired in inducing syncytium formation. *Virology*, 209(2), 580–591.
- Shen J. S., Chen X., Hendershot L. & Prywes R.** (2002). ER stress regulation of ATF6 localization by dissociation of BiP/GRP78 binding and unmasking of golgi localization signals. *Developmental Cell*, 3(1), 99–111.
- Shen Y., Meunier L. & Hendershot L. M.** (2002). Identification and characterization of a novel endoplasmic reticulum (ER) DnaJ homologue, which stimulates ATPase activity of BiP *in vitro* and is induced by ER stress. *Journal of Biological Chemistry*, 277(18), 15947–15956.
- Shi-Chen Ou D., Lee S., Chu Ch., Chang L., Chung B. & Juan L.** (2011). Transcriptional activation of endoplasmic reticulum chaperone GRP78 by HCMV IE1-72 protein. *Cell Research*, 21(4), 642–653.
- Shi Y. G., Vattem K. M., Sood R., An J., Liang J. D., Stramm L. & Wek R. C.** (1998). Identification and characterization of pancreatic eukaryotic initiation factor 2 alpha-subunit kinase, PEK, involved in translational control. *Molecular and cellular biology*, 18(12), 7499–509.
- Shiau A. K., Harris S. F., Southworth D. R. & Agard D. A.** (2006). Structural Analysis of E. coli hsp90 Reveals Dramatic Nucleotide-Dependent Conformational Rearrangements. *Cell*, 127(2), 329–340.
- Shim H. Y., Quan X., Yi Y. S. & Jung G.** (2011). Heat shock protein 90 facilitates formation of the HBV capsid via interacting with the HBV core protein dimers. *Virology*, 410(1), 161–169.
- Schelhaas M., Malmstrom J., Pelkmans L., Haugstetter J., Ellgaard L., Grunewald K. & Helenius A.** (2007). Simian Virus 40 depends on ER protein folding and quality control factors for entry into host cells. *Cell*, 131(3), 516–529.
- Scheufler C., Brinker A., Bourenkov G., Pegoraro S., Moroder L., Bartunik H., Hartl F. U. & Moarefi I.** (2000). Structure of TPR domain-peptide complexes: Critical elements in the assembly of the Hsp70-Hsp90 multichaperone machine. *Cell*, 101(2), pp. 199–210.
- Scheuner D., Song B. B., McEwen E., Liu C., Laybutt R., Gillespie P., Saunders T., Bonner-Weir S. & Kaufman R. J.** (2001). Translational control is required for the unfolded protein response and *in vivo* glucose homeostasis. *Molecular cell*, 7(6), 1165–1176.
- Schlossman D. M., Schmid S. L., Braell W. A. & Rothman J. E.** (1984). An enzyme that removes clathrin coats: Purification of an uncoating ATPase. *Journal of Cell Biology*, 99(2), 723–733.
- Schmid A. B., Lagleder S., Gräwert M. A., Röhl A., Hagn F., Wandinger S. K., Cox M. B., Demmer O., Richter K., Groll M., Kessler H. & Buchner J.** (2012). The architecture of functional modules in the Hsp90 co-chaperone Sti1/Hop. *EMBO Journal*, 31(6), 1506–1517.
- \*Schopf F. H., Biebl M. M. & Buchner J.** (2017). The HSP90 chaperone machinery. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 18(6), 345–360.
- Simon M. C., Kitchener K., Kao H. T., Hickey E., Weber L., Voellmy R., Heintz N. & Nevins J. R.** (1987). Selective induction of human heat shock gene transcription by the adenovirus E1A gene products, including the 12S E1A product. *Molecular and Cellular Biology*, 7(8), 2884–2890.
- Sodeik B., Ebersold M. W. & Helenius A.** (1997). Microtubule-mediated transport of incoming herpes simplex virus 1 capsids to the nucleus. *Journal of Cell Biology*, 136(5), 1007–1021.
- Soldatova I., Prilepskaja T., Abrahamyan L., Forstova J. & Huerfano S.** (2018). Interaction of the Mouse Polyomavirus Capsid Proteins with Importins Is Required for Efficient Import of Viral DNA into the Cell Nucleus. *Viruses*, 10(4), 165.
- Song H. B., Moseley P. L., Lowe S. L. & Ozburn M. A.** (2010). Inducible heat shock protein 70 enhances HPV31 viral genome replication and virion production during the differentiation-dependent life cycle in human keratinocytes. *Virus Research*, 147(1), 113–122.
- Stahl M., Retzlaff M., Nassal M. & Beck J. R.** (2007). Chaperone activation of the hepadnaviral reverse transcriptase for template RNA binding is established by the Hsp70 and stimulated by the Hsp90 system. *Nucleic Acids Research*, 35(18), 6124–6136.
- Stallings C. L., Duigou G. J., Gershon A. A., Gershon M. D. & Silverstein S. J.** (2006). The cellular localization pattern of Varicella-Zoster virus ORF29p is influenced by proteasome-mediated degradation. *Journal of Virology*, 80(3), 1497–1512.
- Stallings C. L. & Silverstein S. J.** (2005). Dissection of a novel nuclear localization signal in open reading frame 29 of varicella-zoster virus. *Journal of Virology*, 79(20), 13070–13081.
- Street T. O., Laver, L. A. & Agard D. A.** (2011). Substrate binding drives large-scale conformational changes in the Hsp90 molecular chaperone. *Molecular Cell*, 42(1), 96–105.
- \*Stricher F., Macri C., Ruff M. & Muller S.** (2013). HSPA8/HSC70 chaperone protein: Structure, function, and chemical targeting. *Autophagy*, 9(12), 1937–1954.
- Swindle C. S., Zou N. X., Van Tine B. A., Shaw G. M., Engler J. A. & Chow L. T.** (1999). Human papillomavirus DNA replication compartments in a transient DNA replication system. *Journal of Virology*, 73(2), 1001–1009.
- Takayama S., Bimston D. N., Matsuzawa S., Freeman B. C., Aime-Sempe C., Xie Z. H., Morimoto R. I. & Reed J. C.** (1997). BAG-1 modulates the chaperone activity of Hsp70 / Hsc70. *EMBO Journal*, 16(16), 4887–4896.
- Thulasiraman V., Yang, C. F. & Frydman J.** (1999). *In vivo* newly translated polypeptides are sequestered in a protected folding environment. *EMBO Journal*, 18(1), 85–95.
- Trus B. L., Roden R. B. S., Greenstone H. L., Vrhel M., Schiller J. T. & Booy F. P.** (1997). Novel structural features of

bovine papillomavirus capsid revealed by a three-dimensional reconstruction to 9 Å resolution. *Nature structural biology*, 4(5), 413–420.

**Tsai B., Gilbert J. M., Stehle T., Lencer W., Benjamin T. L. & Rapoport T. A.** (2003). Gangliosides are receptors for murine polyoma virus and SV40. *EMBO Journal*, 22(17), 4346–4355.

**Tsurumi T., Daikoku T., Kurachi R. & Hishiyama Y.** (1993). Functional interaction between Epstein-Barr virus DNA polymerase catalytic subunit and its accessory subunit *in vitro*. *Journal of Virology*, 67(12), 7648–7653.

**Tsurumi T., Daikoku T. & Nishiyama Y.** (1994). Further characterization of the interaction between the Epstein-Barr virus DNA polymerase catalytic subunit and its accessory subunit with regard to the 3'-to-5' exonucleolytic activity and stability of initiation complex at primer terminus. *Journal of Virology*, 68(5), 3354–3363.

**Ushioda R., Hoseki J., Araki K., Jansen G., Thomas D. Y. & Nagata K.** (2008). ERdj5 is required as a disulfide reductase for degradation of isfolded proteins in ER. *Science*, 321(5888), 569–572.

**Walczak C. P., Ravindran M. S., Inoue T. & Tsai B.** (2014). A cytosolic chaperone complexes with dynamic membrane J-proteins and mobilizes a nonenveloped virus out of the endoplasmic reticulum. *PLoS Pathogens*, 10(3), e1004007.

**Wang G. H. & Seeger C.** (1992). The reverse transcriptase of hepatitis B virus acts as a protein primer for viral DNA synthesis. *Cell*, 71(4), 663–670.

**\*Wang Y., Jin F., Li F., Qin S. & Wang Y.** (2018). Could targeting the heat shock protein 90 revolutionize antiviral therapy? *Future Medicine*, 13(2), 119–127.

**Wang Y. P., Zhao W., Xue R., Zhou Z. X., Liu F., Han Y. X., Ren G., Peng Z. G., Cen S., Chen H. S., Li Y. H., Jiang J. D.** (2011). Oxymatrine inhibits hepatitis B infection with an advantage of overcoming drug-resistance. *Antiviral Research*, 89(3), 227–231.

**Wayne N. & Bolon D. N.** (2007). Dimerization of Hsp90 is required for *in vivo* function: Design and analysis of monomers and dimers. *Journal of Biological Chemistry*, 282(48), 35386–35395.

**Wegele H., Wandinger S. K., Schmid A. B., Reinstein J. & Buchner J.** (2006). Substrate transfer from the chaperone Hsp70 to Hsp90. *Journal of Molecular Biology*, 356(3), 802–811.

**Weikl T., Muschler P., Richter K., Veit T., Reinstein J. & Buchner J.** (2000). C-terminal regions of Hsp90 are important for trapping the nucleotide during the ATPase cycle. *Journal of Molecular Biology*, 303(4), 583–592.

**Weitzmann A., Volkmer J. & Zimmermann R.** (2006). The nucleotide exchange factor activity of Grp170 may explain the non-lethal phenotype of loss of Sil1 function in man and mouse. *FEBS Letters*, 580(22), 5237–5240.

**Westermann B., Pripbus C., Neupert W. & Schwarz E.** (1995). The role of the GrpE homologue, Mge1p, in mediating protein import and protein folding in mitochondria. *EMBO journal*, 14(14), 3452–3460.

**Wingfield P. T., Stahl S. J., Williams R. W. & Steven A. C.** (1995). Hepatitis core antigen produced in Escherichia coli: subunit composition, conformational analysis, and *in vitro* capsid assembly. *Biochemistry*, 34(15), 4919–4932.

**Wu B. J., Hurst H. C., Jones N. C. & Morimoto R. I.** (1986). The E1A 13S product of adenovirus 5 activates transcription of the cellular human HSP70 gene. *Molecular and cellular biology*, 6(8), 2994–2999.

**Xiang Y. F., Qian C. W., Xing G. W., Hao J., Xia M. & Wang Y. F.** (2012). Anti-herpes simplex virus efficacies of 2-aminobenzamide derivatives as novel HSP90 inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22(14), 4703–4706.

**\*Xu C., Bailly-Maitre B. & Reed J.** (2005). Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *Journal of Clinical Investigation*, 115(10), 2656–2664.

**Yang L., Li R., Mohr I. J., Clark R. & Botchan M. R.** (1991). Activation of BPV-1 replication *in vitro* by the transcription factor E2. *Letters to Nature*, 353, 628–632.

**Yang L., Mohr I. J., Fouts E., Lim D. A., Nohaile M. & Botchan M.** (1993). The E1 protein of bovine papilloma virus 1 is an ATP-dependent DNA helicase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(11), 5086–5090.

**Ye J., Rawson R. B., Komuro R., Chen X., Dave U. P., Prywes R., Brown M. S. & Goldstein J. L.** (2000). ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Molecular Cell*, 6(6), 1355–1364.

**Yoshida H., Haze K., Yanagi H., Yura T. & Mori K.** (1998). Identification of the cis-acting Endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 273(50), 33741–33749.

**Yoshida H., Matsui T., Yamamoto A., Okada T. & Mori K.** (2001). XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell*, 107(7), 881–891.

**\*Zhang K. & Kaufman R. J.** (2004). Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *Journal of Biological Chemistry*, 279(25), 25935–25938.

**Zhang S. L., Yu J., Cheng X. K., Ding L., Heng F. Y., Wu N. H. & Shen Y. F.** (1999). Regulation of human hsp90 $\alpha$  gene expression. *FEBS Letters*, 444(1), 130–135.

**Zheng Z. W., Maidji E., Tugizov S. & Pereira L.** (1996). Mutations in the carboxyl-terminal hydrophobic sequence of human cytomegalovirus glycoprotein B alter transport and protein chaperone binding. *Journal of Virology*, 70(11), 8029–8040.

**Zhong M. G., Zheng Z. W., Chen M. Y., Xiang Y. F., Jin F. J., Ma K. Q., Qui X. X., Wang Q. L., Peng T., Kitazato K. & Wang Y. F.** (2014). Heat-shock protein 90 promotes nuclear transport of herpes simplex virus 1 capsid protein by interacting with acetylated tubulin. *PLoS ONE*, 9(6), e99425.

review v seznamu literatury označena \*