Budowa cytoszkieletu oraz zmiany w nim zachodzące indukowane zakażeniami alfaherpeswirusowymi

Łukasz Adaszek[1], Katarzyna Adamczuk[1], Paweł Łyp[2], Barbara Furmaga[2], Stanisław Winiarczyk[1]

z Katedry Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych[1] oraz Zakładu Toksykologii i Ochrony Środowiska Katedry Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych[2] Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Cytoskeleton structure and changes induced during alphaherpesvirus cell infection

Adaszek Ł.[1], **Adamczuk K.**[1], **Łyp P.**[2], **Furmaga B.**[2], **Winiarczyk S.**[1], Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases[1], Sub-Department of Toxicology an Environmental Protection, Department of Preclinical Veterinary Sciences[2] University of Life Sciences in Lublin

This article aims at the presentation of changes within host cell cytoplasm during infection with alphaherpesviruses. Many viruses have developed highly specialized strategies for interference with the cellular cytoskeleton, which improves their replication and spread. One of the main factors involved in these processes is alphaherpesvirus protein US3. Protein US3 is a multifunctional serine-threonine kinase whose function is mainly related to the reorganization of actin, inhibition of apoptosis, and the facilitation of virus cell-to-cell spread. Recently, it was found that US3 kinase phosphorylates and thereby activates PAK kinase – the central regulatory tool in signaling pathways of Rho GTPases. We describe briefly alphaherpesviruses and their US3 kinase functions. We present also the regulatory mechanisms of actin cytoskeleton, in particular small Rho GTPases signaling cascade. In addition, the changes in the actin cytoskeleton with the primary involvement of small Rho GTPases during alphaherpesvirus infection were discussed.

Keywords: alphaherpesviruses, US3 protein, PAK kinase, cytoskeleton.

Podrodzina *Alphaherpesvirinae* skupia wirusy zdolne atakować zarówno ludzi, jak i zwierzęta. Dobrze znanymi ludzkimi alfaherpeswirusami są wirus herpes simplex typu 1 (HSV-1, opryszczka ust) i typu 2 (HSV-2, opryszczka narządów płciowych), wirus półpaśca i ospy wietrznej (VZV, ospa wietrzna, półpasiec). Wirusy zwierzęce należące do omawianej podrodziny to świński wirus wścieklizny rzekomej (PRV), bydlęcy herpeswirus typu 1 i 5 (BoHV i BoHV-1–5), koński herpeswirus typu 1 i 4 (EHV-1 i EHV-4) oraz ptasi herpeswirus wywołujący chorobę Mareka (MDV) i ptasi wirus zakaźnego zapalenia krtani i tchawicy (ILTV).

Przedstawicieli *Alphaherpesvirinae* cechuje wysoka homologia, dzięki czemu informacje uzyskane z badań nad pojedynczymi przedstawicielami tej grupy mogą przynieść cenne informacje o biologii całej podrodziny (1).

Białko US3 jest serynowo-treoninową kinazą, która występuje u wszystkich, w tym ludzkich, alfaherpeswirusów (2). Gen białka US3 wirusa posiada dwa początkowe miejsca transkrypcji. Krótka izoforma składa się z 336 aminokwasów, o masie 41 kDa, stanowi w zakażonych komórkach więcej niż 95% białka US3. Długa izoforma składająca się z 390 aminokwasów, o masie 53 kDa, stanowi mniej niż 5% białka US3 (3). Dwie izoformy różnią się tylko 54 aminokwasami, kodującymi w dłuższej izoformie, N-terminalny sygnał lokalizacji mitochondrialnej (4). Zarówno długie, jak i krótkie formy US3 ulegają ekspresji w zakażonych komórkach, ale tylko krótkie formy są pakowane do wirionów (5). Obie izoformy mają różną lokalizację subkomórkową. Krótka forma US3 lokalizuje się głównie w jądrze komórkowym, podczas gdy długa forma głównie w obrębie błony komórkowej, mitochondriów i cytoplazmy (6). Obie izoformy zawierają domenę lokalizacji membranowej/pęcherzykowej w 101 C-końcowych aminokwasach, a krótka izoforma zawiera domenę lokalizacji nuklearnej w 102 N-końcowych aminokwasach (6).

W wirionie (zarówno w formach podstawowych, jak i dojrzałych) białko US3 zlokalizowane jest w wewnętrznej warstwie tegumentu (7). Jest to jedyne białko, które można znaleźć zarówno w wirionach z pierwotną, jak i wtórną otoczką. Biochemiczne badania *in vitro* pozwoliły scharakteryzować sekwencje konsensusu fosforylacji białka US3, wzorem R_n-X-(S/T)-Y-Y. W tej sekwencji n jest większe lub równe 2, X może być nieobecny lub każdym aminokwasem, z preferencją dla Arg, Ala, Val, Pro lub Ser, S/T jest miejscem docelowym, gdzie seryna lub treonina jest fosforylowana, Y może być dowolnym aminokwasem z wyjątkiem kwaśnych aminokwasów lub proliny (8).

US3 jest istotnym pozytywnym regulatorem replikacji i zjadliwości wirusa. Wirusy, w obrębie których dochodzi do ekspresji tzw. kinase-dead US3 lub nieposiadające US3, wykazują niewielki spadek tempa replikacji w warunkach hodowli komórkowych, ale w mysich modelach *in vivo* (HSV), jak również u świń (PRV) wykazują znaczący spadek zjadliwości i chorobotwórczości (9, 10).

Do pełnej aktywności białka US3 potrzebna jest odpowiednia fizjologicznie substancja wspomagająca – substrat. Substratem US3 wirusa PRV jest białko PAK (p21-activated kinase) (11). Dla US3 wirusa HSV-1 różne fizjologicznie odpowiednie substraty zostały zidentyfikowane. Niektórymi z nich są białka komórkowe: Bad i lamin A/C, innymi są wirusowe białka: UL31, UL34, ICP22 i gB (12, 13).

Funkcje kinazy US3 – reorganizacja cytoszkieletu

US3 jest wielofunkcyjnym białkiem, które bierze udział w wielu różnorodnych procesach. Najlepiej poznane funkcje US3 obejmują: indukcję reorganizacji cytoszkieletu, ochronę komórek przed apoptozą oraz asystowanie wirionom podczas wyjścia z jądra. Poniżej zostaną omówione głównie zmiany w cytoszkielecie aktynowym, spowodowane działaniem białka US3.

W przypadku kilku alfaherpeswirusów stwierdzono, że białko US3 powoduje drastyczne zmiany w cytoszkielecie aktynowym komórki gospodarza, szczególnie rozpad wiązek włókien aktynowych (powodujący zaokrąglenie komórki) oraz tworzenie długich wypustek komórkowych zawierających aktynę.

Badania na zmutowanych wirusach wścieklizny rzekomej (PRV) zawierających różne delecje wykazały, że białko US3 PRV odgrywa rolę w procesie rozpadu wiązek włókien aktynowych (4). Wykazano, że PRV powoduje także tworzenie wypustek komórkowych zawierających aktynę i mikrotubule, a US3 jest konieczne do przegrupowania aktyny (14). Ponadto przegrupowania aktyny za pośrednictwem US3 przyczyniają się do nasilenia rozprzestrzeniania się wirusa (14). Wyniki najnowszych badań wskazują, że centralne regulatory kinaz PAK, nazywane białkami efektorowymi lub efektorami, pośredniczą w reorganizacjach aktynowego cytoszkieletu wywołanych przez US3. PAK2 wydaje się kluczowy dla reorganizacji włókien wiązek aktynowych pod wpływem US3, podczas

gdy PAK1 za pośrednictwem US3 stymuluje tworzenie długich wypustek komórkowych (11).

Cytoszkielet aktynowy i jego interakcja z herpeswirusami

Cytoszkielet (zbudowany z aktyny i mikrotubul) odgrywa istotną rolę w cyklu replikacyjnym i funkcjach wielu wirusów. Herpeswirusy wykorzystują cytoszkielet komórkowy do przylegania oraz wnikania do komórki, do replikacji i przemieszczania się w komórkach i pomiędzy nimi (15). Cytoszkielet komórkowy jest bardzo dynamiczną trójwymiarową strukturą, odgrywającą zasadniczą rolę w wielu procesach biologicznych komórki. Składa się z trzech głównych komponentów strukturalnych: włókien aktyny, włókien pośrednich i mikrotubuli. Włókna aktynowe zbudowane są z aktyny, białka globularnego o masie 43kDa, które jest najczęściej występującym białkiem w komórkach eukariotycznych. Aktyna ma naturalną zdolność do gromadzenia i tworzenia homopolimerów, nazywanych włóknistą aktyną lub F-aktyną (od: filamentous – włóknisty; 16). Te aktynowe mikrofilamenty występują jako nitkowate, spiralne włókna białkowe o średnicy od 5 do 7 nm (17).

Włókna aktynowe są rozproszone w całej komórce, ale na obwodzie komórki są bardziej skoncentrowane i tworzą złożone struktury (18). Można je podzielić na: (a) gęstą siatkę włókien aktynowych tuż pod błoną komórkową zwaną korą aktynową, (b) szereg równoległych wiązek włókien kurczliwych aktyny i (c) zawierające aktynę wypustki komórkowe, takie jak mikrokosmki, pseudopodia, filopodia i lamellipodia (18, 19). Gromadzenie się i organizacja przestrzenna struktur aktynowych są regulowane za pomocą kilku białek wiążących aktynę: kompleks Arp2/3 (actin-related protein 2/3) i forminy powodują zbijanie się aktyny (Arp2/3 powoduje także rozgałęzianie włókien aktyny), rodzina czynników depolimeryzacji aktyny ADF/cofilin (actin depolymerizing factor) wpływa na depolimeryzację włókien aktynowych, profiliny wiążą się z monomerami aktynowymi, białka terminalne (ang. Capping proteins) zatykają końce włókien i blokują wydłużanie (20).

Cytoszkielet aktynowy jest czymś więcej niż tylko rusztowaniem. Jest to elastyczna, wysoce adaptowalna sieć, która zapewnia wsparcie mechaniczne, określa kształt komórki i determinuje ruchliwość komórek. Odgrywa istotną rolę w takich procesach komórkowych, jak endocytoza, cytokineza i utrzymywanie połączeń komórkowych (21, 22). Tak duża różnorodność funkcyjna cytoszkieletu aktynowego jest możliwa dzięki jego naturalnej zdolności do szybkiego kurczenia się i rozczepiania włókien oraz dzięki świetnie kontrolowanej przestrzenno-czasowej supramolekularnej organizacji (23).

Sygnalizacja Rho GTPaz

Organizacja cytoszkieletu jest ściśle regulowana przez wysoce zintegrowane i złożone kaskady sygnałowe. Głównym regulatorem szlaków sygnałowych aktyny jest rodzina małych Rho GTPaz (Rho, Cdc42 i Rac). Rho jest zaangażowane w powstawanie wiązek włókien aktynowych, Cdc42 uczestniczy w tworzeniu filopodiów, a Rac przyczynia się do powstawania lamelipodiów (24). W skład rodziny Rho GTPaz wchodzi ponad 20 czynników.

Rho GTPazy działają jak molekularne przełączniki. Są kierowane do błony dzięki potranslacyjnemu przyłączaniu grup prenylowych przez geranyl-geranyltransferazy (GGTazy). Cyrkulacja między nieaktywną (związaną z GDP) i aktywną (związaną z GTP) formą jest regulowana przez czynniki wymiany nukleotydów guaninowych (guanine nucleotide exchange factors – GEFs) i białka aktywujące GTPazy (GTPase-activating proteins – GAPs). Aktywacja GTPaz zachodzi po wcześniejszej aktywacji czynników GEFs (25). Inhibitory dysocjacji nukleotydów guaninowych (guanine nucleotide dissociacion inhibitors – GDIs) hamują dysocjację nukleotydów i kontrolują cyrkulację Rho GTPaz między membraną a cytoplazmą.

Aktywne, związane z GTP, GTPazy oddziałują ze swoimi cząsteczkami efektorowymi, pośrednicząc w różnych odpowiedziach komórkowych. Rho GTPazy znane są głównie z ich kluczowej roli w regulacji cytoszkieletu aktynowego (26). Stwierdzono, że Rho wywołuje zespalanie kurczliwych włókien aktyny i miozyny, a Rac stymuluje formowanie bogatych w aktynę blaszkowatych wypustek komórkowych (lamelipodia). Cdc42 bierze udział w powstawaniu bogatych w aktynę, cienkich nitkowatych wypustek membranowych (filopodia; 27). Interakcja pomiędzy Rho, Rac i Cdc42 jest zorganizowana w taki sposób, że zarówno Rac, jak i Cdc42 tłumią działanie Rho (28). Kaskada sygnałów kontrolowana przez każdą z GTPaz prowadzi do powstawania oraz organizacji włókien aktynowych. Oddziaływanie małych Rho GTPaz na odpowiednio specyficzne efektory determinuje, które ze struktur aktyny włóknistej zostaną uformowane.

Białka efektorowe Cdc42

Kluczowymi i najlepiej poznanymi białkami efektorowymi Cdc42 jest grupa kinaz aktywowanych przez p21 (PAK, p21-activated kinases). PAK kinazy mają zasadnicze znaczenie w regulacji przebudowy cytoszkieletu i ruchliwości komórek. Istnieją dwie podrodziny PAK: PAK kinazy z grupy A, aktywowane podczas interakcji z Cdc42 i Rac1, w skład których wchodzą: PAK1 (ekspresjonowane w mózgu, mięśniach i śledzionie), PAK2 (ekspresjonowane we wszystkich komórkach) i PAK3 (ekspresjonowane w mózgu) oraz PAK kinazy z grupy B, ich aktywacja jest niezależna od GTPaz, składające się z trzech izoform PAK4, 5 i 6. PAK z grupy A są kinazami serynowo-treoninowymi (29). Dwa najlepiej poznane substraty PAK A kinaz, rozróżniane na podstawie sposobu ich oddziaływania na aktynowy cytoszkielet, to kinazy LIM (LIMK) i kinazy lekkiego łańcucha miozyny (MLCK). LIMK są kinazami serynowymi, które przez fosforylację dezaktywują przedstawicieli rodziny ADF/kofilin (30). PAK kinazy mogą powodować fosforylację LIMK, co prowadzi do zahamowania aktywności kofilin (31). Fosforylacja kofiliny hamuje jej wiązanie z F-aktyną, w ten sposób hamowana jest depolimeryzacja F-aktyny, i stabilizacja jej struktury (30).

Miozyna to ATPaza aktywowana przez aktynę, która zamienia energię pochodzącą z hydrolizy ATP na energię zużywaną przez włókna aktyny i miozyny w czasie skurczu mięśni. PAK kinazy regulują dynamikę miozyny w dwa przeciwstawne sposoby. Albo przez bezpośrednią fosforylację MLC, która prowadzi do zwiększenia kurczliwości włókien (32), lub też przez fosforylację, a tym samym inaktywację MLCK, zmniejszają fosforylację MLC, co redukuje wiązanie się aktomiozyn oraz redukuje rozprzestrzenianie się komórek (33). Ostatnio stwierdzono, że PAK1 i PAK2 różnią się funkcyjnie: PAK1 jest bardziej zaangażowany w tworzenie lamelipodiów, przede wszystkim zwiększając fosforylację MLC, przez co zwiększa kurczliwość, a także hamuje fosforylację kofilin, PAK2 powoduje demontaż wiązek włókien aktynowych, głównie przez hamowanie fosforylacji MLC, która tłumi aktywność RhoA (34).

Białka efektorowe Rac

Pomimo że Rac powoduje tworzenie innych wypustek komórkowych (lamelipodia) niż Cdc42 (filopodia), niektóre białka efektorowe dla Rac są podobne jak w przypadku Cdc42. Na przykład dla Rac kluczowym efektorem są także PAK kinazy.

Białka efektorowe Rho

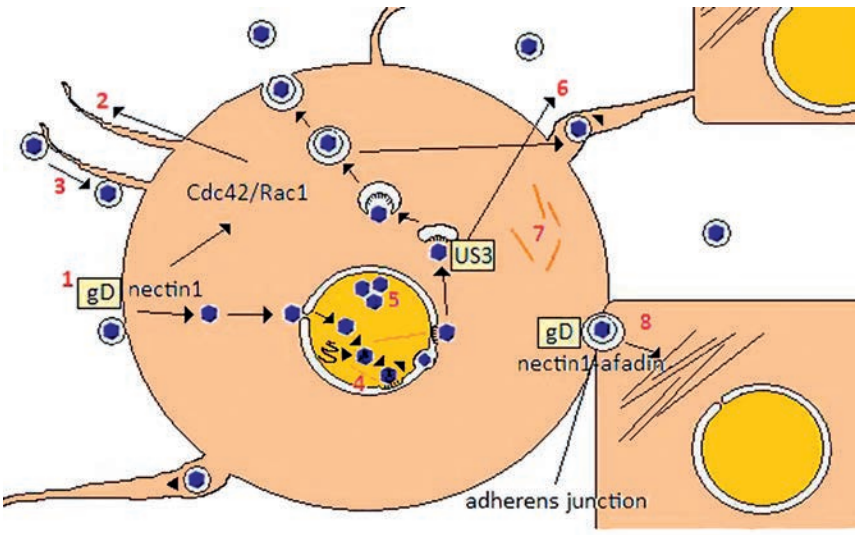
Ważnym białkiem efektorowym Rho, prowadzącym do formacji wiązek włókien aktynowych oraz ogniskowych miejsc adhezyjnych (focal adhesion) jest ROCK (Rho-associated coiled-coil kinase). ROCK jest aktywowany przez wiązanie Rho-GTP, następstwem czego są jednoczesna bezpośrednia fosforylacja MLC i hamowanie aktywności fosfatazy MLC (35). Ufosforylowany MLC indukuje wiązanie miozyny II i zwiększa kurczliwość opartą na aktomiozynie niezbędną do generacji wiązek włókien kurczliwych. Innym białkiem docelowym dla ROCK jest LIMK, jego aktywacja prowadzi do stabilizacji F-aktyny (30). Fosforylacja MLC osiąga różne skutki w zależności od tego, czy Rho lub PAK są zaangażowane w ten proces. Odpowiedź komórkowa po aktywacji Rho, Rac i/lub Cdc42 zależy od czasu aktywacji GTPaz oraz miejsca i stopnia fosforylacji MLC (29, 36).

Modulacja aktynowego cytoszkieletu przez alfaherpeswirusy

Cytoszkielet komórkowy spełnia kluczową rolę w cyklu replikacyjnym ludzkich wirusów. Alfaherpeswirusy wydają się wchodzić w interakcje z cytoszkieletem aktynowym na każdym etapie zakażenia (ryc. 1).

Interakcja między wirusową glikoproteiną D i nektyną 1 (ryc. 1–1) podczas wnikania wirusa do komórki powoduje aktywację Cdc42/Rac1 oraz formację filopodiów (ryc. 1–2) i lamelipodiów (37, 38). Cząsteczki wirusowe mogą korzystać z tych filopodiów, aby dostać się do wnętrza komórki, a aktyny mogą być wykorzystane do absorpcji wirusa na drodze endocytozy (ryc. 1–3; 39, 40). Aktyna włóknista w jądrze może być wzbudzona przez zakażenie wirusowe i może być wykorzystana jako ścieżka przemieszczenia się kapsydów (ryc. 1–4), w kierunku specyficznych punktów wyjścia z jądra (41). Jądrowa aktyna jest również zaangażowana w tworzenie wyższego rzędu zespołów kapsydowych (ryc. 1–5; 42). Najbardziej nasilona reorganizacja aktyny, obserwowana po zakażeniu wirusem, zachodzi dosyć późno w procesie zakażenia. W cytoplazmie dochodzi do powstawania wypustek komórkowych (obserwowane u HSV-1 i 2, PRV, VZV, BoHV-1; ryc. 1–6), które biorą udział w międzykomórkowym rozprzestrzenianiu się wirusa, a także zachodzi rozczepianie wiązek włókien aktynowych (obserwowane u HSV-1 i 2, PRV, MDV, VZV, BoHV-1; ryc. 1–7; 4, 6, 14, 39, 43, 44, 45, 46). W przypadku niektórych wirusów, na przykład PRV, MDV, BoHV, HSV-2, za procesy te odpowiedzialna jest kinaza US3 (4, 6, 14, 43, 45, 46, 47). Aktyny związane z afadyną mogą kierować nektynę 1 do połączeń przylegających między komórkami i ułatwiać przez to rozprzestrzenianie się wirusa z komórki do komórki (ryc. 1–8; 48, 49, 50).

Znajomość mechanizmów warunkujących rozprzestrzenianie się wirusów z komórki do komórki jest niezwykle istotna z punktu widzenia nie tylko poznawczego, lecz także z uwagi na możliwość opracowania nowych metod leczenia i zapobiegania szerzeniu się zakażeń wirusowych. Badania nad przemianami, jakie zachodzą w komórce pod wpływem zakażeń wirusowych na poziomie molekularnym, są niezwykle istotne z punktu widzenia patogenezy chorób zakaźnych, a ich poznanie umożliwia opracowanie określonej strategii terapii. Ma to znaczenie zwłaszcza w odniesieniu do chorób o ciężkim przebiegu lub które są przyczyną znacznych strat ekonomicznych w hodowli zwierząt, jak ma to miejsce w przypadku zakażeń alfaherpeswirusowych.



Ryc. 1. Interakcje pomiędzy alfaherpeswirusami i cytoszkieletem aktynowym (adaptacja z Van den Broeke, 2009). Objaśnienia do numeracji znajdują się w tekście

Piśmiennictwo

1. Pomeranz L.E., Reynolds A.E., Hengartner C.J.: Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2005, **69**, 462–500.
2. McGeoch D.J., Davison A.J.: Alphaherpesviruses possess a gene homologous to the protein kinase gene family of eukaryotes and retroviruses. *Nucleic. Acids. Res.* 1986, **14**, 1765–1777.
3. van Zijl M., van der Gulden H., de Wind N., Gielkens A., Berns A.: Identification of two genes in the unique short region of pseudorabies virus; comparison with herpes simplex virus and varicella-zoster virus. *J. Gen. Virol.* 1990, **71**, 1747–1755.
4. Van Minnebruggen G., Favoreel H.W., Jacobs L., Nauwynck H.J.: Pseudorabies virus US3 protein kinase mediates actin stress fiber breakdown. *J. Virol.* 2003, **77**, 9074–9080.
5. Klupp B.G., Granzow H., Mettenleiter T.C.: Effect of the pseudorabies virus US3 protein on nuclear membrane localization of the UL34 protein and virus egress from the nucleus. *J. Gen. Virol.* 2001, **82**, 2363–2371.
6. Calton C.M., Randall J.A., Adkins M.W. Banfield B.W.: The pseudorabies virus serine/threonine kinase Us3 contains mitochondrial, nuclear and membrane localization signals. *Virus Genes.* 2004, **29**, 131–145.
7. Granzow H., Klupp B.G., Mettenleiter T.C.: The pseudorabies virus USS protein is a component of primary and of mature virions. *J. Virol.* 2004, **78**, 1314–1323.
8. Leader D.P., Deana A.D., Marchiori F., Purves F.C., Pinna L.A.: Further definition of the substrate specificity of the alpha-herpesvirus protein kinase and comparison with protein kinases A and C. *Biochimica et biophysica acta.* 1991, **1091**, 426–431.
9. Meignier B., Longnecker R., Mavromara-Nazos P., Sears A.E., Roizman B.: Virulence of and establishment of latency by genetically engineered deletion mutants of herpes simplex virus 1. *Virology*. 1988, **162**, 251–254.
10. Kimman T.G., De Wind N., De Bruin T., de Visser Y., Voermans J.: Inactivation of glycoprotein gE and thymidine kinase or the US3-encoded protein kinase synergistically decreases in vivo replication of pseudorabies virus and the induction of protective immunity. *Virology*. 1994, **205**, 511–518.
11. Van den Broeke C., Radu M., Deruelle M., Nauwynck H., Hofmann C., Jaffer Z.M., Chemoff J., Favoreel H.W. Alphaherpesvirus US3-mediated reorganization of the actin cytoskeleton is mediated by group A p21-activated kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2009, **106**, 8707–8712.
12. Kato A., Yamamoto M., Ohno T., Kodaira H., Nishiyama Y., Kawaguchi Y.: Identification of proteins phosphorylated directly by the Us3 protein kinase encoded by herpes simplex virus 1. *J. Virol.* 2005, **79**, 9325–9331.
13. Kato A., Arii J., Shiratori I., Akashi H., Arase H., Kawaguchi Y.: Herpes simplex virus 1 protein kinase Us3 phosphorylates viral envelope glycoprotein B and regulates its expression, on the cell surface. *J. Virol.* 2009, **83**, 250–261.
14. Favoreel H.W., Van Minnebruggen G., Adriaensen D., Nauwynck H.J.: Cytoskeletal rearrangements and cell extensions induced by the US3 kinase of an alphaherpesvirus are associated with enhanced spread. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005, **102**, 8990–8995.
15. Smith G.A., Enquist L.W.: Break ins and break outs: viral interactions with the cytoskeleton of Mammalian cells. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2002, **18**, 135–161.
16. Furukawa R., Fechheimer M.: The structure, function, and assembly of actin filament bundles. *Int. Rev. Cytol.* 1997, **175**, 29–90.
17. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.: *Molecular biology of the cell*. 3rd ed., New York and London, 2002
18. Bretscher A.: Microfilament structure and function in the cortical cytoskeleton. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 1991, **7**, 337–374.
19. Amos L.A., Amos W.B.: *Molecules of the cytoskeleton*. Guilford press, New York, 1991.
20. Disanza A., Steffen A., Hertzog M., Frittoli E., Rottner K., Scita G.: Actin polymerization machinery: the finish line of signaling networks, the starting point of cellular movement. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2005, **62**, 955–970.
21. Glotzer M.: Animal cell cytokinesis. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2001, **17**, 351–86.

22. Qualmann B., Kessels M.M.: Endocytosis and the cytoskeleton. *Int. Rev. Cytol.* 2002, **220**, 93–144.
23. Beckerle M. C.: Spatial control of actin filament assembly: lessons from Listeria. *Cell*. 1998, **95(6)**, 741–748.
24. Hall A.: Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science*. 1998, **279 (5350)**, 509–514.
25. Schmidt A., Hall A.: Guanine nucleotide exchange factors for Rho GTPases: turning on the switch. *Genes. Dev.* 2002, **16**, 1587–1609.
26. Etienne-Manneville S., Hall A.: Rho GTPases in cell biology. *Nature.* 2002, **420**, 629–635.
27. Nobes C.D., Hall A.: Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell*. 1995, **81**, 53–62.
28. Sander E.E., ten Klooster J.P., van Delft S., van der Kammen R.A, Collard J.G.: Rac downregulates Rho activity: reciprocal balance between both GTPases determines cellular morphology and migratory behavior. *J. Cell. Biol*. 1999, **147**, 1009–1022.
29. Bokoch G.M.: Biology of the p21-activated kinases. *Annu. Rev. Biochem*. 2003, **72**, 743–781.
30. Bamburg, J. R.: Proteins of the ADF/cofilin family: essential regulators of actin dynamics. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 1999, **15**, 185–230.
31. Edwards D.C., Sanders L.C., Bokoch G.M., Gill G.N.: Activation of LIM-kinase by Pak1 couples Rac/Cdc42 GTPase signalling to actin cytoskeletal dynamics. *Nat. Cell. Biol.* 1999, **1**, 253–259.
32. Chew T.L., Masaracchia R.A., Goeckeler Z.M., Wysolmerski R. B.: Phosphorylation of non-muscle myosin II regulatory light chain by p21-activated kinase (gamma--PAK). *J. Muscle. Res. Cell. Motil.* 1998, **19**, 839–854.
33. Goeckeler Z.M., Masaracchia R.A., Zeng Q., Chew T.L., Gallagher P., Wysolmerski, R.B.: Phosphorylation of myosin light chain kinase by p21-activated kinase PAK2. *J. Biol. Chem.* 2000, **275**, 18366–18374.
34. Coniglio S.J., Zavarella S., Symons M.H.: Pak1 and Pak2 mediate tumor cell invasion through distinct signaling mechanisms. *Mol. Cell. Biol.* 2008, **28**, 4162–4172.
35. Matsui T., Amano M., Yamamoto T., Chihara K., Nakafuku M., Ito M., Nakano T., Okawa K., Iwamatsu A., Kaibuchi K.: Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho. *EMBO J.* 1996, **15**, 2208–2216.
36. Bishop A.C., Hall A.: Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem. J.* 2000, **348**, 241–255.
37. Spear P.G., Eisenberg R.J., Cohen G.H.: Three classes of cell surface receptors for alphaherpesvirus entry. *Virology*. 2000, **275**, 1–8.
38. Sakisaka T., Taniguchi T., Nakanishi H., Takahashi K., Miyahara M., Ikeda W., Yokoyama S., Peng Y.F., Yamanishi K., Takai Y.: Requirement of interaction of nectin-1alpha/HveC with afadin for efficient cell-cell spread of herpes simplex virus type 1. *J. Virol.* 2001, **75**, 4734–4743.
39. Dixit R., Tiwari V., Shukla D.: Herpes simplex virus type 1 induces filopodia in differentiated P19 neural cells to facilitate viral spread. *Neurosci. Lett.* 2008, **440**, 113–118.
40. Tiwari V., Oh M.J., Kovacs M., Shukla S.Y., Valyi-Nagy T., Shukla D.: Role for nectin1 in herpes simplex virus 1 entry and spread in human retinal pigment epithelial cells. *FEBS J.* 2008, **275**, 5272–5285.
41. Forest T., Barnard S., Baines J.D.: Active intranuclear movement of herpesvirus capsids. *Nat. Cell. Biol.* 2005, **7**, 429–431.
42. Feierbach B., Piccinotti S., Bisher M., Denk W., Enquist L. W.: Alphaherpesvirus infection induces formation of nuclear actin filaments. *PLoS Pathog.* 2006, **2**, e85.
43. Murata T., Goshima F., Daikoku T., Takakuwa H., Nishiyama Y.: Expression of herpes simplex virus type 2 US3 affects the Cdo42/Rac pathway and attenuates c-Jun N-terminal kinase activation. *Genes. Cells.* 2000, **5**, 1017–1027.
44. Schumacher D., Tischer B.K., Trapp S., Osterrieder N.: The protein encoded by the US3 orthologue of Marek's disease virus is required for efficient de-envelopment of perinuclear virions and involved in actin stress fiber breakdown. *J. Virol.* 2005, **79**, 3987–3997.
45. Finnen R.L., Roy B.B., Zhang H. Banfield B. W.: Analysis of filamentous process induction and nuclear localization properties of the HSV-2 serine/threonine kinase Us3. *Virology*. 2009, **397**, 23–33.
46. Brzozowska A., Rychłowski M., Lipinska A.D. Bienkowska-Szewczyk K.: Point mutation in BHV-1 US3 gene abolishes its ability to induce cytoskeletal changes in various cell types. *Vet. Microbiology.* 2010, **143**, 8–13.
47. Schumacher D., McKinney C., Kaufer B.B., Osterrieder N.: Enzymatically inactive U(S)3 protein kinase of Marek's disease virus (MDV) is capable of depolymerizing F-actin but results in accumulation of virions in perinuclear invaginations and reduced virus growth. *Virology*. 2008, **375**, 37–47.
48. Takahashi K., Nakanishi H., Miyahara M., Mandai K., Satoh K., Satoh A., Nishioka H., Aoki J., Nomoto A., Mizoguchi A., Takai Y.: Nectin/PRR: an immunoglobulin-like cell adhesion molecule recruited to cadherin-based adherens junctions through interaction with afadin, a PDZ domain-containing protein. *J. Cell. Biol.* 1999, **145**, 539–549.
49. Johnson D.C., Hubert M.T.: Directed egress of animal viruses promotes cell-to-cell spread. *J. Virol.* 2002, **76**, 1–8.
50. Krummenacher C., Baribaud I., Eisenberg R.J., Cohen G.H.: Cellular localization of nectin-1 and glycoprotein D during herpes simplex virus infection. *J. Virol.* 2003, **77**, 8985–8999.

Dr hab. Łukasz Adaszek, Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: ukaszek0@wp.pl