

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διδακτορική μου διατριβή επικεντρώνεται στο ρόλο της ιντεγκρινο-συνδεόμενης κινάσης (ILK) κατά τη μορφογενετική διαδικασία της επιμήκυνσης του ωοθαλάμου στη *Drosophila*. Προκειμένου να μελετήσουμε κυρίως το ρόλο της ILK και έπειτα το ρόλο της Parvin, ως κεντρικά μέλη του ιντεγκρινικού συνδεοσώματος, ακολουθήσαμε την εξής μεθοδολογία: α) δημιουργία συνθηκών έλλειψης της ILK στο ωοθυλακικό επιθήλιο είτε μέσω γενετικής απαλοιφής της ILK με το σύστημα FRT/FLP ή GAL4/UAS-FLP είτε μέσω αποσιώπησης της έκφρασης της ILK μέσω RNA παρεμβολής (RNA interference), β) δημιουργία συνθηκών έλλειψης της Parvin στο ωοθυλακικό επιθήλιο μέσω γενετικής απαλοιφής της Parvin με το σύστημα FRT/FLP. Οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν κυρίως ήταν: α) ανοσοφθορισμός ή β) ζωντανή απεικόνιση των ωοθαλάμων είτε κατά την περιστροφή είτε κατά το φαινόμενο των ταλαντώσεων της ακτομυοσίνης με σκοπό τη δημιουργία και την ανάλυση αυτών των εικονοσειρών.

Αρχικά ανέλυσα τα επίπεδα έκφρασης και τον εντοπισμό της β ιντεγκρίνης (β_{PS}), της ILK, της Parvin, της PINCH και της Talin στα ωοθυλακικά κύτταρα κατά την ωογένεση. Τα επίπεδα των πρωτεϊνών αυτών αυξάνονται καθώς αναπτύσσεται ο ωοθάλαμος και εντοπίζονται κυρίως στις απολήξεις των ινιδίων τάσης της ακτίνης εκτός από την β_{PS} η οποία εντοπίζεται σε όλο το μήκος της πλασματικής μεμβράνης.

Στη συνέχεια εξέτασα αν η ILK εμπλέκεται στην περιστροφή των ωοθαλάμων. Από την ανάλυση της ταχύτητας της περιστροφής προέκυψε πως η ILK δεν διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της περιστροφής των ωοθαλάμων αφού οι ωοθάλαμοι στους οποίους έγινε μειорύθμιση της ILK περιστρέφονται με παρόμοια ταχύτητα με αυτή των αγρίου τύπου ωοθαλάμων.

Ωστόσο, η ILK επηρεάζει τη μορφογενετική διαδικασία των περιοδικών ταλαντώσεων της ακτομυοσίνης. Η ανάλυση έδειξε πως η ταλάντωση των επιπέδων της μη-μυϊκής μυοσίνης II και της ακτίνης γίνεται περισσότερο γρήγορα και με μικρότερη ένταση όταν απουσιάζει η ILK. Επιπλέον στα *Ilk*^{-/-} κύτταρα βρέθηκαν αυξημένα τα επίπεδα της φωσφορυλιωμένης μη-μυϊκής μυοσίνης II. Παράλληλα, το μήκος της πλασματικής μεμβράνης ήταν μειωμένο και η αυξομείωση του μήκους της πλασματικής μεμβράνης κατά τις παλμικές της κινήσεις ήταν μεγαλύτερη. Επομένως, κατά την απουσία της ILK τα

κύτταρα γίνονται πιο συσταλάτα υποδεικνύοντας πως η ILK στο ωοθυλακικό επιθήλιο δρα ως ρυθμιστικός παράγοντας της συσταλτικής κατάστασης των κυττάρων. Όταν απουσιάζει η ILK, η ακτίνη χάνει τελείως το αγρίου τύπου πρότυπο οργάνωσής της. Παρόμοιοι φαινότυποι για την ακτίνη παρουσιάστηκαν και σε ωοθαλάμους από τους οποίους απουσίαζε η Parvin.

Εκτός από την ακτίνη, κατά την απουσία της ILK ή της Parvin επηρεάστηκε και η οργάνωση της πλασματικής μεμβράνης και της β υπομονάδας των ιντεγκρινών στη βασική πλευρά των ωοθυλακικών κυττάρων καθώς παρουσίασε αύξηση στο πλάτος της. Διευρυμένη εναπόθεση περιμετρικά της πλασματικής μεμβράνης παρουσίασε και η λαμινίνη, συστατικό της βασικής μεμβράνης, ενώ το κολλαγόνο έμεινε ανεπηρέαστο. Επιπλέον η πλασματική μεμβράνη, σχημάτιζε ελασματοπόδια προς τυχαίες κατευθύνσεις και πάλλονταν με ταχείες κυματοειδής κινήσεις. Η διαταραχή στην οργάνωση των ιντεγκρινών και στην κινητικότητα της πλασματικής μεμβράνης οδήγησε στην ανάλυση της κινητικότητας των ιντεγκρινών μέσω πειραμάτων FRAP σε ωοθαλάμους γενετικά μωσαϊκά για την ILK και για την Parvin. Αν και θα περιμέναμε η κινητικότητα των ιντεγκρινών να είναι αυξημένη κατά την απουσία της ILK ή της Parvin, κάτι τέτοιο δεν συνέβη καθώς το κινητικό κλάσμα των ιντεγκρινών εμφανίστηκε μειωμένο, υποδηλώνοντας περισσότερο σταθερή σύνδεση με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης και στη βασική μεμβράνη. Τα παραπάνω δείχνουν πως η ILK και η Parvin συνεργάζονται στενά με τις ιντεγκρίνες και μάλιστα ρυθμίζουν την οργάνωση τους και την κινητικότητα τους στην πλασματική μεμβράνη.

Τέλος, η ILK παίζει ρόλο στη συλλογική μεταναστευτική κίνηση των κυττάρων. Η μέτρηση της ταχύτητας της μετανάστευσης των ωοθυλακικών κυττάρων, κατά τη μετακίνησή τους προς το εμπρόσθιο τμήμα του ωοθαλάμου, έδειξε πως τα μεταλλαγμένα για την *Ilk* κύτταρα παρά την άτακτη κινητικότητά τους μεταναστεύουν πιο γρήγορα από τα αγρίου τύπου κύτταρα. Είναι η πρώτη φορά που αναδεικνύεται παρόμοιος ρόλος της ILK στη συλλογική μετακίνηση των κυττάρων, ανοίγοντας ένα νέο κεφάλαιο πειραμάτων.