

# Dissecting neural mechanisms of appetitive behavior mediated by serotonergic neurons in the adult *Drosophila melanogaster*

## Abstract

Feeding decision is a highly regulated process which is influenced by environmental cues and internal needs. To integrate diverse cues, animals produce a variety of neuromodulators which modulate different aspects of feeding-related appetitive behavior from sensory input, several processing stations in between to behavioral output. Serotonin as a broadly involved neurotransmitter and neuromodulator regulates diverse aspects of appetitive behavior. However, the mechanisms underlying these behaviors are not well understood. This thesis attempts to explore how modulation of serotonin signaling impacts innate olfactory processing, olfactory learning and memory, and food consumption in adult *Drosophila*.

Here, I found that serotonergic LP1 and IP neurons targeted by *Sert3*-GAL4 negatively modulate innate odor attraction and positively regulate odor aversion, which may be due to the projection of LP1 and IP neurons in the superior medial protocerebrum (smpr) and the ventrolateral protocerebrum (vlpr) in the brain, respectively, relating with olfactory processing. These functional serotonergic neurons do not release GABA, acetylcholine, and glutamate. Additionally, the function of serotonergic neurons targeted by *Sert3*-GAL4 in innate odor detection is dominantly counteracted by two contralateral projection serotonergic deutocerebral (CSD) neurons. CSD neurons regulate single odor detection within odor mixtures in an opposing way, for some odors the sensitivity is reduced, and for other increased. This various function is not affected by the neurotransmitters, GABA, acetylcholine, and glutamate, which are not present in CSD neurons. I used GRASP (GFP reconstitution across synaptic partners) to visualize the neuronal pathway of CSD neurons in the olfactory system, which indicates that CSD neurons may directly target the PNs in the AL, or get the information from the projection neurons (PNs) and Kenyon cells in higher center, and feedback to mediate the input of PNs to the antennal lobe (AL) or indirectly address PNs by local internal neurons (LNs). Finally, different serotonin receptors have different function

in innate EtOH attraction. 5-HT1B and 5-HT7 positively regulate EtOH attraction while 5-HT2A negatively modulates EtOH attraction. Thus, CSD neurons or LP1 and IP neurons may via different receptors to regulate different odor detection.

Serotonin can modulate olfactory appetitive and aversive learning and memory; however the subset of serotonergic neurons that code for appetitive learning and memory is not fully identified in adult flies. I found that IP, LP1 and SE1 neurons are a subset of serotonergic neurons that negatively regulate appetitive learning and memory, while they do not affect olfactory aversive and aversive reversal learning and memory. CSD neurons have no function in olfactory learning and memory, although they project to the calyx of the mushroom body (MB). Additionally, serotonergic dorsal paired medial (DPM) neurons, required for aversive olfactory learning and memory in the adult, could be not identified in the larvae using different GAL4 drivers for adult DPM neuron labeling. It might reflect a different function of serotonin in olfactory learning and memory between larvae and adult. However, SERT is expressed in the larval mushroom body, which is consistent with previous studies in the adult flies. Furthermore, serotonin can reduce food intake in *Drosophila*, but the responsible subset of serotonergic neurons is not clear. Here I identified that enhanced IP, LP1 and SE1 neuron signaling suppresses carbohydrate intake, but does not mediate protein related food intake or affect body weight on standard food. Moreover, these neurons positively prolong starvation resistance. Prolonged serotonin signaling in CSD neurons has no effect on food intake.

These results suggest that serotonergic neurons targeted by *Sert3*-GAL4 are negative regulators for appetitive behaviors, while serotonergic CSD neurons specifically mediate odorant perception. This provides an entry point into identification of specialized serotonergic neuronal circuits responsible for distinct behavioral tasks.

## Zusammenfassung

Die Futterauswahl ist ein hoch regulierter Prozess, der durch Umwelteinflüsse und körperliche Bedürfnisse beeinflusst wird. Um verschiedene Signale zu integrieren, produzieren Tiere eine Vielzahl an Neuromodulatoren, welche Aspekte des futterbezogenen appetitiven Verhaltens vom sensorischen Input und den verschiedenen Verarbeitungsschritten dazwischen bis zum gewählten Verhalten moduliert. Serotonin als vielfältig involvierter Neurotransmitter und Neuromodulator reguliert verschiedene Aspekte des appetitiven Verhaltens. Dennoch sind die zugrundeliegenden Mechanismen dieses Verhaltens nicht bekannt. In dieser Arbeit wird beabsichtigt, zu erforschen wie Modulation durch Serotoninsignale immanente olfaktorische Prozessierung, olfaktorisches Lernen und Gedächtnis sowie Futteraufnahme in adulter *Drosophila* beeinflusst.

Hierbei fand ich heraus, dass durch *Sert3-GAL4* angesprochene serotonerge LP1 und IP Neurone auf negative Weise immanente Duftattraktion modulieren und auf positive Weise Duftaversion regulieren, was durch die Projektion von LP1 und IP Neurone in das superior mediale protocerebrum (smpr) und das ventrolaterale protocerebrum (vlpr) im Gehirn bedingt sein könnte, welche beide eine Rolle für olfaktorische Prozessierung spielen. Diese funktionellen serotonergen Neurone geben kein GABA, Acetylcholin und Glutamat ab. Zudem konnte die Funktion der LP1 und IP Neurone auf immanente Dufterkennung durch verstärktes 5-HT Signal von zwei contralateral projecting serotonergic deutocerebral (CSD) Neuronen dominant aufgehoben werden. Ergänzend regulieren CSD Neurone die Erkennung einzelner Düfte in gegensätzliche Richtungen – für einige Düfte ist die Sensitivität reduziert und für andere erhöht. Diese verschiedenen Funktionen werden nicht durch die Neurotransmitter GABA, Acetylcholine und Glutamat beeinflusst, da diese nicht in den CSD Neuronen vorkommen. Ich habe GRASP (GFP reconstitution across synaptic partners) verwendet, um den neuronalen Weg von CSD Neuronen im olfaktorischen neuronalen System zu visualisieren, was darauf hinweist dass CSD Neurone direkt die Projection Neurons (PN) im antenal lobe (AL) reguliert, oder die Informationen von den PNs und Kenyon Cells in höheren Zentren erhält und den Input der PNs zum AL rückmeldet oder indirekt die PNs über lokale Interneurone (LN) adressiert. Des Weiteren haben verschiedene Serotoninrezeptoren verschiedene Funktionen bei der immanenten Dufterkennung, wobei 5-HT1B und 5-HT7 auf positive Weise und 5-HT2A auf negative Weise die EtOH Attraktivität modulieren. Darauf

basierend, könnten CSD Neurone oder LP1 und IP Neurone verschiedene Duftwahrnehmungen durch unterschiedliche Rezeptortypen regulieren.

Serotonin kann das olfaktorische appetitive und aversive Lernen und Gedächtnis modulieren. Dennoch ist die Neuronengruppe, welche das appetitive Lernen und Gedächtnis in adulten Fliegen reguliert noch nicht identifiziert. Ich zeige, dass die LP1, IP und SE1 Neurone eine Untergruppe der serotonergen Neurone sind, die auf negative Weise das appetitive Lernen und Gedächtnis beeinflussen, wohingegen sie keinen Einfluss auf das olfaktorische aversive Lernen und Gedächtnis haben. CSD Neurone haben keine Funktion im olfaktorischen Lernen und Gedächtnis, obwohl sie zum Calyx des Pilzkörpers (MB) projizieren. Des Weiteren konnten die serotonergen dorsalen paired medial (DPM) Neurone, welche im adulten Tier für aversives olfaktorisches Lernen und Gedächtnis benötigt werden, in der Larve unter Verwendung verschiedener GAL4 Treiberlinien, die adulte DPM Neurone adressieren, nicht nachgewiesen werden. Dies könnte darauf hindeuten, dass serotonerge Signale für Lernen und Gedächtnis unterschiedlich in Larve und adultem Tier funktionieren. SERT wird im larvalen Pilzkörper exprimiert, was konsistent ist zu vorherigen Studien im adulten Tier. Desweiteren kann Serotonin die Futterraufnahme in *Drosophila* reduzieren, aber die dafür verantwortliche Untergruppe an serotonergen Neuronen ist nicht bekannt. Hierzu habe ich identifiziert, dass verstärktes IP, LP1 und SE1 Neuronensignal die Kohlenhydrataufnahme reduziert, jedoch die proteinabhängige Futterraufnahme sowie das Körpergewicht auf Standardfutter nicht beeinflusst. Zudem verlängern diese Neurone die Hungerresistenz. Verlängertes Serotoninsignal von CSD Neuronen hat keinen Einfluss auf die Futterraufnahme.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass serotonerge Neurone, adressiert durch Sert3-GAL4, negative Regulatoren für appetitives Verhalten sind, wohingegen serotonerge CSD Neurone spezifisch die Duf terkennung regulieren. Dies ist somit ein erster Schritt zur Aufklärung spezialisierter serotonerger neuronaler Schaltkreise, welche für verschiedene Verhaltensaufgaben verantwortlich sind.