

Zusammenfassung

Das Nervensystem muss den Zustand eines motorischen Systems so regulieren, dass es den Verhaltensanforderungen entspricht und Aufgaben möglichst angemessen ausgeführt werden. Bei Wirbeltieren sind beispielsweise die sympathischen und parasympathischen Anteile des autonomen Nervensystems zwei solcher Regulierungssysteme, die die motorischen Systeme des Organismus in die Zustände "Kampf oder Flucht" bzw. "Ruhe und Verdauung" versetzen. Bei der motorischen Kontrolle spielt die Neuromodulation eine zentrale Rolle, um die erforderliche neuronale und verhaltensbezogene Flexibilität zu gewährleisten. In den letzten 50 Jahren wurde eine Reihe von neuromodulatorischen Substanzen beschrieben, darunter Neuropeptide, die bei weitem die größte und vielfältigste Klasse von Signalmolekülen darstellt. Obwohl es immer mehr Hinweise darauf gibt, dass Neuropeptide mit der Regulierung von motorischen Systemen in Verbindung stehen, ist wenig darüber bekannt, ob sie für die Modulation terrestrischer Fortbewegung eine Rolle spielen. Zur Untersuchung dessen eignet sich die Stabheuschrecke *Carausius morosus* in besonderem Maße, da sie im Hinblick auf die Entstehung und die neuronale Grundlage der terrestrischen Fortbewegung auf morphologischer, biomechanischer, neuronaler und muskulärer Ebene intensiv untersucht ist. Im Folgenden stelle ich drei Publikationen vor, die sich auf verschiedene Aspekte konzentrieren: Identifizierung, Lokalisierung und Funktion von Neuropeptiden.

Funktionelle Studien über Neuropeptide erfordern Vorkenntnisse über den kompletten Bestand vorhandener Neuropeptide. In meiner ersten Publikation (Liessem et al., 2018) habe ich daher das Neuropeptid-Inventar von *C. morosus* charakterisiert. Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für die weitere Untersuchung der Funktion spezifischer Neuropeptide im motorischen Kontrollsystem der Beine.

In meiner zweiten Publikation (Liessem et al., 2020, in Revision) habe ich diese Ergebnisse verwendet, um zu untersuchen, welche Peptide in Neuronen vorhanden sind, die die Beinmuskulatur innervieren. Das Ergebnis dieser Untersuchung zeigt, dass in diesen Neuronen nur Myoinhibitorische Peptide (MIP) vorhanden ist. Die Expression von MIP beschränkt sich auf common inhibitor (CI) und dorsal unpaired median (DUM) Neurone, von denen bislang nur bekannt war, dass sie kleine chemische Transmitter wie GABA bzw. Oktopamin enthalten. Angesichts der großen Anzahl der bei *C. morosus* vorhandenen Peptide und der Vielfalt der in anderen motorischen Systemen vorhandenen Peptide ist dieses Ergebnis unerwartet. Die Tatsache, dass nur ein Peptid-Neuromodulator in diesen Neuronen enthalten ist, vereinfacht hingegen die Analyse der MIP-Effekte erheblich. Wie meine Versuche zeigen, reduziert MIP primär die Kraft- und Kontraktionsamplitude langsamer Muskelfasern, exemplarisch

gezeigt in einem von CI- und DUM-innervierten Muskel, dem *extensor tibiae*. Das Zusammenspiel aus dem von CI und DUM freigesetzten MIP, Oktopamin und vermutlich auch GABA würde somit deutlich zur Feinsteuerung und Erzeugung schneller Bewegungen in den von CI- und DUM-innervierten Beinmuskelgruppen beitragen.

Die Untersuchung von neuronalen Elementen des motorischen Systems (mit Ausnahme der oben beschriebenen efferenten Neurone) bezüglich des Vorhandenseins von Neuropeptiden ist erschwert, wenn kein genetischer Zugang besteht, z.B. durch Expression von Fluoreszenzproteinen. Alternativ kann für die nicht zielgerichtete Visualisierung verschiedenster Neuropeptide im Nervensystem die Massenspektrometrie-Bildgebung (MSI) eingesetzt werden. In der dritten Publikation (Ly et al., 2019) haben wir diese Methode dahingehend optimiert, dass der Nachweis von Neuropeptiden in Insekten verbessert wurde, unter Verwendung der Amerikanischen Schabe, einem Modellorganismus in der Neuropeptidforschung. Unsere Analyse bestätigt eine differentielle Prozessierung von Prohormonen und zeigt eine ausgeprägte neuropeptid-basierte Kompartimentierung des Retrocerebral-Komplexes mit einer Auflösung von 15 μm . Die Implementierung dieser Methode in der Stabheuschrecke unter Berücksichtigung der in der ersten und zweiten Publikation gewonnenen Erkenntnisse wird sich als nützlich für zukünftige Studien erweisen, um das Vorkommen und die komplexen Interaktionen von Neuropeptiden innerhalb des motorischen Systems von *C. morosus* zu untersuchen.

Abstract

Nervous systems must regulate motor system state to match behavioral needs and to perform tasks most appropriately. In vertebrates, two such regulatory systems are the sympathetic and parasympathetic divisions of the autonomic nervous system, which, respectively, set the organism's motor systems into "fight or flee" or "rest and digest" states. In motor control, neuromodulation plays a pivotal role in providing the required neuronal and behavioral flexibility. Over the last 50 years, a whole array of neuromodulatory substances have been described including neuropeptides which are by far the largest and most diverse class of signaling molecules. Although there is increasing evidence that neuropeptides are associated with the regulation of motor systems, little is known about whether they are involved in modulation of terrestrial locomotion. In this thesis, this topic is addressed using the stick insect *Carausius morosus*, in which the generation and neural basis of terrestrial locomotion have been intensively studied on morphological, biomechanical, neuronal, and muscle levels. In the following, I will present three publications focusing on different aspects: neuropeptide identification, neuropeptide localization, and neuropeptide function.

Functional studies on neuropeptides require prior knowledge about the complete set of neuropeptides present. In my first publication (Liessem et al., 2018), I characterized the neuropeptide inventory of *C. morosus*. These results provide the groundwork for analyzing the role of specific neuropeptides in the leg motor control system.

In my second publication (Liessem et al., 2020, in Review), I used this information to profile all leg muscle innervating neurons upon their peptide inventory. Given the large number of peptides available in *C. morosus* and the diversity of peptides present in other motor systems, it was unexpected to find that only myoinhibitory peptide (MIP) is present in neurons innervating leg muscles and that this expression is restricted to common inhibitor (CI) and dorsal unpaired median (DUM) neurons. These neurons were shown to contain other small chemical transmitters such as GABA and octopamine, respectively. There being only one peptide neuromodulator in these neurons greatly simplifies analyzing MIP's effects. MIP primarily reduces slow muscle fiber force and contraction amplitude, exemplarily shown in one of the muscles they innervate (*extensor tibia* muscle). CI- and DUM-released MIP, octopamine, and likely GABA would thus work to coordinately tune CI- and DUM-innervated leg muscle sets that are functionally related to produce rapid movements.

Neuropeptide profiling of neuronal elements (other than the above described efferent neurons) of the locomotor circuitry is not trivial without means of genetic accessibility, e.g., endogenous expression

of markers. One alternative approach for untargeted visualization of multiple neuropeptides in the nervous system is Mass Spectrometry Imaging (MSI). In the third publication (Ly et al., 2019), we optimized this method to enhance neuropeptide detection in insects using the American cockroach, a model organism in neuropeptide research. Our analysis confirms differential prohormone processing and distinct neuropeptide-based compartmentalization of the retrocerebral complex with a 15 μm resolution. With reference to the information gathered in the first and second publication, MSI proves useful for future studies to investigate the presence and complex neuropeptide interactions within the locomotor circuitry of *C. morosus* in more detail.