

Informe final publicable de proyecto

Estudio de termorreceptores moleculares e integración de información sensorial en larva de *Drosophila melanogaster*

Código de proyecto ANII: FCE_3_2022_1_172528

Fecha de cierre de proyecto: 01/10/2025

BUDELLI RODRÍGUEZ, Gonzalo (Responsable Técnico - Científico)

BRIZOLARA, Facundo (Investigador)

TRONCONE MARTINS, Catalina (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE MEDICINA (Institución Proponente) \\\

FACULTAD DE MEDICINA. FUNDACIÓN MANUEL PEREZ

Resumen del proyecto

Establecimos una nueva línea de investigación en la Unidad Académica de Biofísica (Facultad de Medicina, Udelar) que estudia sistemas termosensoriales utilizando la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, como organismo modelo. La financiación otorgada nos permitió: realizar mejoras edilicias que incluyen la construcción de un cuarto para experimentos comportamentales, instalar dos set-ups de fisiología (uno de electrofisiología y el otro de imagenología de calcio), poner a punto un ensayo comportamental para estudiar termosensibilidad en larvas y obtener los insumos necesarios para llevar a cabo el proyecto. Se fortalecieron los vínculos con el laboratorio de la Dra. Carmen Bolatto (U.A. de Histología, Facultad de Medicina Udelar) y con el Dr. Pablo Fresia (Unidad Mixta Pasteur INIA, Institute Pasteur). A su vez, se comenzaron nuevas colaboraciones, a nivel nacional con el laboratorio de Ecología Química (Facultad de Química, Udelar), y a nivel regional con el Dr. Nicolas Pirez del grupo de Fisiología Sensorial (CONICET-UBA).

Realizamos experimentos para identificar neuronas termosensoriales y los mecanismos moleculares utilizados por estas células para detectar temperatura, o cambios en temperatura. En particular, estudiamos los patrones de expresión en larva de *Drosophila* utilizando el sistema Gal4-UAS. Los patrones de expresión de receptores vinculados a termorrecepción, como TRPA1, Gr28b y los receptores ionotrópicos Ir21a, Ir25a y Ir93 mostraron neuronas no reportadas previamente como termorreceptores. Con los equipos instalados podremos determinar si estas células responden a la temperatura o a cambios de temperatura. Finalmente, pusimos a punto un preparado experimental para el registro de células termosensibles en larva de *Drosophila* utilizando la técnica de Patch-Clamp. Esto nos permitirá estudiar las propiedades biofísicas de las conductancias termosensibles en estas neuronas, así como la actividad en neuronas de proyección en el lóbulo antenal de la larva y su rol en el procesamiento de la información termosensorial.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biofísica / Neurociencias, sistemas sensoriales

Palabras clave: Termorrecepción / *Drosophila* / Neurociencias /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

Los sistemas termosensoriales son muy importantes para evitar temperaturas extremas que pueden tener graves consecuencias para el organismo. Así mismo, la detección de temperatura es utilizada por animales para localizar temperaturas óptimas para su desarrollo y reproducción (1,2). Los mosquitos y otros insectos también utilizan sus sistemas de detección de temperatura para localizar a sus presa (3,4). El sistema nervioso integra información proveniente de múltiples señales sensoriales que generan y modulan el comportamiento animal (5). Esta integración es de suma importancia en sistemas termosensoriales, no solo porque los animales usualmente integran información proveniente de múltiples termorreceptores, sino también porque la información termosensorial es continuamente obtenida e integrada con otras modalidades sensoriales. Si bien ha habido un avance importante en la comprensión de la integración sensorial a nivel de circuitos, todavía es necesaria una descripción más detallada, abarcando desde los receptores moleculares a neuronas involucradas y funcionamiento de los circuitos. En este proyecto propusimos establecer una nueva línea de investigación que consiste en el estudio de termorreceptores y la integración de la información termosensorial en *Drosophila melanogaster*. El trabajo en *Drosophila* no es solamente económicamente favorable, también cuenta con variadas herramientas genéticas, la posibilidad de hacer imagenología en el animal entero y claras respuestas comportamental. Los experimentos propuestos en este proyecto fueron llevados a cabo en la Unidad Académica de Biofísica (Facultad de

Medicina, UdelaR) con equipo actualmente instalado y disponible. Las líneas de *Drosophila* necesarias fueron mantenidas con el apoyo de la Profesora Dra. Carmen Bolatto de la Unidad Académica de Histología. Un objetivo fundamental fue el de generar colaboraciones con otros laboratorios de la Universidad de la República, así como con laboratorios a nivel nacional y regional que estudian temas afines o que estén interesados en usar *Drosophila* como organismo modelo. La colaboración con estos laboratorios permitirá no solo la realización de este proyecto, también la creación de nuevas líneas de investigación.

Para comprender como un determinado organismo encuentra su temperatura óptima o evita temperaturas más altas o bajas a esta, debemos identificar las neuronas termosensoriales y los mecanismos moleculares utilizados por estas células para detectar temperatura, o cambios en temperatura. Distintos termorreceptores moleculares han sido descritos, entre los que se destacan los canales iónicos miembros de la superfamilia TRP (por sus siglas en inglés, Transient Receptor Potential) (7,8). En *Drosophila*, varios miembros de la familia TRP han sido vinculados a termorrecepción. Uno de estos canales es TRPA1, el cual se ha demostrado en el laboratorio del Dr. Garrity que responde a altas temperaturas y a electrófilos reactivos (9,10). Además de los canales TRP, otros receptores que responden a cambios de temperatura han sido estudiados. El receptor Gr28b, es miembro de la familia de receptores gustativos (GRs, por sus siglas en inglés) pero se ha demostrado que responde a altas temperaturas (11). Miembros de otra familia de receptores, los receptores ionotrópicos Ir21a, Ir25a y Ir93 también son necesarios para la detección de bajas temperaturas en *Drosophila* (12,13). Los receptores ionotrópicos (IRs, por sus siglas en inglés) son una familia relacionada a los receptores de glutamato, pero en lugar de tener un rol en la transmisión sináptica, estos receptores se expresan en neuronas sensoriales donde fueron caracterizados como receptores químicos en neuronas olfatorias y gustativas (14). En el adulto de *Drosophila melanogaster* se han descrito dos sistemas de detección de temperaturas inocuas superiores a la temperatura óptima o preferida por la mosca. Uno de estos sistemas es responsable del comportamiento para evitar temperaturas superiores a 25°C (temperatura óptima o preferida) a largo plazo y requiere la expresión de la proteína TRPA1 en las células anteriores del cerebro (9). El otro sistema es responsable del comportamiento para evitar temperaturas superiores a la óptima en tiempos cortos y requiere de la expresión de Gr28b en células de la arista en la antena de la mosca (11). Mi trabajo en el laboratorio del Dr. Paul Garrity en las células de la arista conocidas como Cold Cells, demostró que los Receptores Ionotrópicos Ir21a, Ir25a y Ir93a son necesarios no solo para la respuesta de la célula a cambios de temperatura, también son necesarios para la morfogénesis de su elaborada dendrita. Además, las moscas con mutaciones en estos genes fallan en evitar temperaturas más bajas y mas altas a la óptima cuando se las expone a optar entre dos temperaturas (13).

En la larva, neuronas sensoriales involucradas en termotaxis parecen residir en el ganglio del órgano dorsal (DOG), ya que la transección bilateral del nervio que conecta el órgano dorsal con el cerebro produce la eliminación total de termotaxis (16). Nuestros resultados previos indican la existencia en larva de al menos dos tipos de neuronas termosensoriales que responden a temperaturas inocuas en el órgano dorsal. Además de las células que responden a disminución de temperatura (DOCC, Dorsal Organ Cold Cells), previamente descritas en el laboratorio del Dr. Garrity (12), hay un set de neuronas que responden al aumento de temperatura (DOHC, Dorsal Organ Hot Cells). Nuestros resultados indican que ambos sets de neuronas dependen de distintos receptores miembros de la familia de Receptores Ionotrópicos. Las neuronas del órgano dorsal que responden a la disminución en temperatura (DOCCs) necesitan de los receptores ionotrópicos Ir21a, Ir25a y Ir93a (12,17). Además, la expresión ectópica de Ir21a en células que expresan Ir25a y Ir93a confiere sensibilidad a la disminución de temperatura (12), lo cual es consistente con la idea de que estos receptores forman un termorreceptor. Cabe recalcar, que Ir25a y Ir93 también juegan un rol en neuronas que responden a alta y baja humedad relativa en el adulto (17), nuestra hipótesis es que Ir25a y Ir93 actúan como co-receptores que forman heterotetrameros con otros receptores ionotrópicos que determinan la especificidad del receptor. Las neuronas que responden a aumentos de

temperatura en el órgano dorsal (DOHCs) expresan Ir68a. Los termorreceptores en larva de *Drosophila* no han sido aun completamente caracterizados, distintos mutantes (incluyendo IRs, Gr28b y TRPA1) serán utilizados para identificar otras neuronas termosensibles, así como los receptores moleculares necesarios en estas neuronas. Durante mi postdoctorado he intentado expresar los receptores ionotrópicos involucrados en termorrecepción en sistemas de expresión heteróloga (ovocitos de *Xenopus*, células HEK y células S2) sin éxito, esta dificultad también experimentada por otros laboratorios lleva a que las propiedades biofísicas de estos receptores sean, hasta el momento, totalmente desconocidas. La preparación experimental propuesta en los métodos permitirá el estudio de estos receptores. Utilizando la técnica de patch-clamp podremos controlar el voltaje y estudiar las corrientes producidas en estas células en respuesta a cambios de temperatura, de esta forma observaremos las propiedades de estas corrientes (por ejemplo, si la corriente es sostenida o muestra inactivación). Estos experimentos se pueden realizar utilizando distintos medios extracelulares para determinar propiedades del receptor como selectividad o permeabilidad relativa a distintos iones. En el análisis del conectoma de esta región de la larva realizado en el laboratorio del Dr. Samuel (aun no publicado), se han identificado un pequeño grupo de neuronas de proyección en el lóbulo de la antena del cerebro que forman conexiones con los axones de las neuronas termosensoriales del ganglio del órgano dorsal. Estas neuronas de proyección mandan la información termosensorial a regiones superiores del cerebro. Es interesante notar que las DOHCs forman sinapsis con una neurona de proyección diferente que recibe también proyecciones de una neurona olfatoria. La identificación de estas neuronas de proyección nos permitirá examinar como la información termosensorial es inicialmente integrada y procesada en el cerebro. El hecho de que la misma neurona de proyección reciba información de neuronas termosensoriales y olfativas sugiere que hay procesamiento de información multisensorial ya a este nivel. Además, las neuronas que responden a aumentos de temperatura parecen formar conexiones con interneuronas inhibitorias del lóbulo antenal que podrían también incidir en el procesamiento multisensorial.

Metodología/Diseño del estudio

El organismo modelo utilizado es *Drosophila melanogaster*. Para estudiar las neuronas que expresan termorreceptores se utilizó el sistema Gal4-UAS. Esta herramienta genética utiliza una línea transgénica de moscas con la secuencia de Gal4 regulada por las secuencias promotoras del gen de interés, y otra línea transgénica en donde se insertó el promotor UAS regulando la expresión de GFP. Finalmente, se realiza un cruzamiento y parte de la progenie resultante va a contar con individuos que expresan GFP en las células que expresan el receptor de interés (Ir21a, Ir25a, Ir93a, TRPA1, Gr28b).

Se utilizaron distintas líneas transgénicas de la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) disponibles en el laboratorio. Mediante la expresión de GFP, se estudiaron los patrones de expresión de distintos receptores (Ir21a, Ir25a, Ir68a, Ir93a, TRPA1 y Gr28b) en la larva y adulto, utilizando microscopía de fluorescencia y confocal. Se utilizaron líneas para expresar Gcamp en células receptoras y mediante imagenología de calcio se analizó la activación celular frente a cambios de temperatura.

Microscopía de epifluorescencia y confocal

Para los experimentos de microscopía de fluorescencia se utilizó un microscopio de epifluorescencia invertido Nikon Eclipse Ti-2 con cámara CMOS Hamamatsu Orca Flash 4.0 Fusión-BT que permite captación de imágenes en tiempo real de alta resolución y bajo ruido. Se trabajó en la caracterización de los patrones de expresión distintos receptores. Para los ensayos se utilizaron larvas y adultos que presentaban expresión de GFP bajo la regulación del promotor del gen de interés. Para microscopía confocal se utilizó el microscopio confocal Leica SP5 II. El mismo obtiene imágenes de todo el volumen del preparado, permitiendo analizar plano a plano, así como obtener una reconstrucción tridimensional de las

neuronas. Para el análisis de las imágenes se utilizó el programa Fiji (de ImageJ) de código abierto.

Patch clamp

La preparación es similar a la utilizada previamente para realizar registros electrofisiológicos en motoneuronas (18). La larva es cortada en dos pedazos, el trozo cefálico se invierte (poniendo la cara exterior en el interior), exponiendo el cerebro y los ganglios del órgano dorsal. La pared muscular y cerebro son sujetados utilizando dos pines de tal forma que el cerebro y las células del órgano dorsal queden accesibles. La disección expone los ganglios de los órganos dorsales de tal forma que sus dendritas sensoriales y axones que proyectan al cerebro permanezcan intactos. Una vez expuestos los ganglios, utilizando un electrodo de vidrio se perfunde con Proteasa XIV el ganglio para digerir su membrana exterior y exponer las neuronas. Las neuronas marcadas con GFP quedan accesibles al microelectrodo de vidrio para realizar los experimentos de patch-clamp en su configuración de célula entera. La metodología permite el estudio electrofisiológico de las neuronas del órgano dorsal in situ en la larva de *Drosophila* con su sistema nervioso central prácticamente intacto.

Una vez el preparado está listo, se acerca con un micromanipulador piezoeléctrico una micropipeta de vidrio pulida (con diámetros de la punta de entre 1-3 μm y resistencias de 5-10 mega ohmios), la cual permite tener un contacto directo con la membrana de la célula y la generación de un gigasello. Mediante la aplicación de presión negativa en el interior de la pipeta se logra romper el parche de membrana y ahora el interior de la pipeta se encuentra en contacto directo con el interior de la célula. De esta forma obtenemos la configuración de Whole-cell (célula entera) lo cual posibilita la obtención de registros electrofisiológicos del potencial de membrana y de las corrientes frente a cambios de temperatura. Se utilizó un amplificador Axopatch 200B conectado a una computadora utilizando una DigiData 1322a, la adquisición y análisis se realizaron con el programa Clampex.

Imagenología de calcio

La metodología empleada permite el análisis fisiológico de las neuronas del órgano dorsal in vivo en larvas de *Drosophila*, mediante el sistema de expresión Gal4-UAS. Para ello, se realizaron cruces de líneas de moscas transgénicas: una línea que expresa Gal4 bajo el control del promotor del receptor de interés, y otra que expresa el sensor de calcio GCaMP regulado por el promotor UAS. De este modo, las neuronas seleccionadas expresaron Gal4, induciendo así la expresión de GCaMP. Cuando las neuronas termosensibles se activaron, los niveles de calcio intracelular aumentan, generando un incremento en la fluorescencia de GCaMP. Esta metodología proporciona una herramienta eficaz para observar indirectamente la activación celular a través de cambios en las concentraciones intracelulares de calcio.

Se utilizó un microscopio Zeiss Axiolab equipado con fluorescencia y una cámara CCD Hamamatsu. Las imágenes obtenidas fueron analizadas con el programa ImageJ.

Resultados, análisis y discusión

Se empleó microscopía de epifluorescencia y confocal para estudiar los patrones de expresión de distintos termorreceptores en larvas y adultos de *Drosophila melanogaster*. A través del sistema Gal4-UAS, se expresó GFP en las neuronas donde se expresan los receptores Ir21a, Ir25a, Ir68a, Ir93a, GR28b y TRPA1. De esta forma se determinaron los patrones de expresión de estos receptores en la región cefálica de la larva de *Drosophila* y se observó su expresión en distintos órganos sensoriales del adulto. Se observaron neuronas en algunas regiones previamente no descritas como termorreceptores.

Se estudió la actividad neuronal en larvas de *Drosophila melanogaster* mediante técnicas de imagenología de calcio, se observaron cambios en la fluorescencia de estas neuronas frente a cambios de temperatura. Utilizando la expresión de la proteína fluorescente GCaMP6m, regulada por el sistema Gal4 específico para

el receptor Ir21a, se observaron variaciones en la fluorescencia inducidos por cambios en niveles de calcio intracelular como indicador de activación neuronal. Los resultados obtenidos fueron consistentes con resultados previamente reportados. En condiciones basales, a 25°C, se identifican tres neuronas fluorescentes (que expresan GCaMP) con sus somas en el ganglio del órgano dorsal. Como era esperado, ante un descenso de temperatura a 15°C, se observa un incremento significativo en la fluorescencia, lo que sugiere una respuesta activa de estas neuronas al cambio térmico.

La imagenología de calcio va a ser utilizada para estudiar si las neuronas identificadas en los patrones de expresión de los receptores, que no han sido reportadas, son termosensibles.

En este proyecto se desarrolló un preparado para realizar registros electrofisiológicos usando la técnica de patch-clamp, y de esta forma estudiar las respuestas a cambios de temperatura en neuronas termosensibles. Las neuronas marcadas con GFP quedan accesibles al microelectrodo de vidrio para realizar los experimentos de patch-clamp en su configuración de célula entera. El ganglio del órgano dorsal de la larva contiene neuronas termosensibles y neuronas olfatorias cuyas dendritas se encuentran en el órgano dorsal. Todas estas neuronas proyectan sus axones al cerebro. El sistema Gal4-UAS fue utilizado para identificar las neuronas termosensoriales mediante la expresión de GFP. Nuestros resultados previos muestran que las células del órgano dorsal que responden a disminuciones y aumentos de temperatura son marcadas por las líneas Gal4 de los receptores ionotrópicos Ir21a e Ir68a. Estas líneas fueron utilizadas para expresar GFP en estas células y de esa forma identificarlas y poder realizar registros electrofisiológicos para caracterizar las respuestas de estas neuronas frente a cambios de temperatura. Si bien no se logró obtener la configuración de célula entera, logramos obtener gigasellos en estas neuronas (configuración On-cell), la cual permite realizar registros de corriente en ese parche de membrana. Estamos trabajando en dos alternativas para poder obtener registro de toda la membrana neuronal, el primero es en mejorar la topología de las puntas de los microelectrodos de vidrio y el segundo es la utilización de antibióticos para perforar el parche de membrana y de esa forma lograr el contacto eléctrico con el interior celular. Esperamos en los próximos meses obtener los resultados planteados en el proyecto utilizando el preparado desarrollado.

Distintos mutantes serán analizados para determinar la identidad del receptor de temperatura en estas neuronas. Estos resultados no solo nos permitirán identificar el receptor molecular responsable de las respuestas a temperatura, también podremos determinar las respuestas evocadas por los cambios de temperatura en estas neuronas, en particular las corrientes termosensibles y sus propiedades biofísicas. Utilizando la técnica de patch-clamp podremos controlar el voltaje y estudiar las corrientes producidas en estas células en respuesta a cambios de temperatura, de esta forma observaremos las propiedades de estas corrientes (por ejemplo, si la corriente es sostenida o muestra inactivación, si tiene dependencia con el voltaje). Estos experimentos se van a realizar utilizando distintos medios extracelulares para determinar propiedades del receptor como selectividad o permeabilidad relativa a distintos iones.

Una vez obtenidos los resultados en las neuronas sensoriales, utilizaremos el preparado para registrar la actividad de las neuronas de proyección en el lóbulo antenal del cerebro y determinar si hay procesamiento de la información termosensorial en este nivel del circuito.

Conclusiones y recomendaciones

Se estableció una línea de investigación en la Unidad Académica de Biofísica (Facultad de Medicina, UdelAR) para estudiar sistemas termosensoriales utilizando la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*, como organismo modelo.

Determinamos los patrones de expresión específicos de los receptores ionotrópicos Ir21a, Ir93a, TRPA1 y GR28b en neuronas del sistema nervioso de *Drosophila melanogaster*. Se identificaron algunas neuronas

que expresan estos receptores de las cuales no encontramos reportes en la bibliografía, se estudiara si las mismas son termosensibles.

Tal como esperábamos, las neuronas que expresan Ir21a en el órgano dorsal mostraron una respuesta significativa a la disminución de temperatura en los experimentos de imagenología de calcio, lo que es consistente con su rol en la detección de cambios térmicos. Esta técnica sera utilizado para estudiar las neuronas identificadas en los patrones de expresión de los receptores que no han sido reportadas como termosensibles.

Obtuvimos importantes logros para avanzar en el estudio electrofisiológico de las células termosensoriales del órgano dorsal y del cerebro de *Drosophila melanogaster*. La preparación desarrollada permitiría caracterizar tanto los cambios en el potencial transmembrana, así como las corrientes generadas en respuesta frente a cambios de temperatura. De esta forma se podrán caracterizar las propiedades biofísicas de estos receptores por primera vez y mejorar nuestra comprensión de los mecanismos neuronales involucrados. A su vez los registros de las neuronas de proyección serán fundamentales para empezar a entender el procesamiento de la información termosensorial en *Drosophila*.

El conocimiento adquirido, además de aumentar nuestro conocimiento en termorrecepción en animales, puede ayudar para entender como insectos vectores de enfermedades o plagas agropecuarias detectan a sus presas y generar herramientas para combatirlas.

Referencias bibliográficas

1. Garrity, P.A., Goodman, M.B., Samuel, A.D. & Sengupta, P. Running hot and cold: behavioral strategies, neural circuits, and the molecular machinery for thermotaxis in *C. elegans* and *Drosophila*. *Genes & development* 24, 2365-2382 (2010).
2. Barbagallo, B. & Garrity, P.A. Temperature sensation in *Drosophila*. *Current opinion in neurobiology* 34C, 8-13 (2015).
3. What does heat tell a mosquito? Characterization of the orientation behaviour of *Aedes aegypti* towards heat sources. Zermoglio PF, Robuchon E, Leonardi MS, Chandre F, Lazzari CR. *J Insect Physiol.* 2017 Jul; 100:9-14.
4. C.J. McMeniman, R.A. Corfas, B.J. Matthews, S.A. Ritchie, L.B. Vosshall. Multimodal integration of carbon dioxide and other sensory cues drives mosquito attraction to humans. *Cell*, 156 (2014), pp. 1060-1071
5. Stein, B.E. & Stanford, T.R. Multisensory integration: current issues from the perspective of the single neuron. *Nature reviews. Neuroscience* 9, 255-266 (2008).
6. Ferreira G., Raddatz N., Lorenzo Y., González C., Latorre R. (2015) Biophysical and Molecular Features of Thermosensitive TRP Channels Involved in Sensory Transduction. In: Madrid R., Bacigalupo J. (eds) TRP Channels in Sensory Transduction. Springer.Cham
7. M. J. Caterina, M. A. Schumacher, M. Tominaga, T. A. Rosen, J. D. Levine, and D. Julius, "The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway," *Nature*, vol. 389, no. 6653, pp. 816–824, 1997
8. Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Earley TJ, Dragoni I, McIntyre P, Bevan S, Patapoutian A. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell*. 2002 Mar 8;108(5):705-15.
9. Hamada FN, Rosenzweig M, Kang K, Pulver SR, Ghezzi A, Jegla TJ, Garrity PA. An internal thermal sensor controlling temperature preference in *Drosophila*. *Nature*. 2008 Jul 10;454(7201):217-20. doi: 10.1038/nature07001.
10. Kang K, Pulver SR, Panzano VC, Chang EC, Griffith LC, Theobald DL, Garrity PA. Analysis of *Drosophila* TRPA1 reveals an ancient origin for human chemical nociception. *Nature*. 2010 Mar 25;464(7288):597-600.
11. Ni L, Bronk P, Chang EC, Lowell AM, Flam JO, Panzano VC, Theobald DL, Griffith LC, Garrity PA. A gustatory receptor paralogue controls rapid warmth avoidance in *Drosophila*. *Nature*. 2013 Aug 29;500(7464):580-4.
12. Ni L, Klein M, Svec KV, Budelli G, Chang EC, Ferrer AJ, Benton R, Samuel AD, Garrity PA. The Ionotropic Receptors IR21a and IR25a mediate cool sensing in *Drosophila*. *Elife*. 2016 Apr 29;5. pii: e13254.
13. Budelli G, Ni L, Berciu C, van Giesen L, Knecht ZA, Chang EC, Kaminski B, Silbering AF, Samuel A, Klein M, Benton R, Nicastro D, Garrity PA. Ionotropic Receptors Specify the Morphogenesis of Phasic Sensors Controlling Rapid Thermal Preference in *Drosophila*. *Neuron*. 2019 Feb 20;101(4):738-747.e3.
14. Rytz R, Croset V, Benton R. Ionotropic receptors (IRs): chemosensory ionotropic glutamate receptors in *Drosophila* and beyond. *Insect Biochem Mol Biol*. 2013 Sep;43(9):888-97.
15. Gallio M, Ofstad TA, Macpherson LJ, Wang JW, Zuker CS. The coding of temperature in the *Drosophila* brain. *Cell*. 2011 Feb 18;144(4):614-24. doi:10.1016/j.cell.2011.01.028.
16. Klein, M., Afonso, B., Vonner, A.J., Hernandez-Nunez, L., Berck, M., Tabone, C.J., Kane, E.A., Pieribone, V.A., Nitabach, M.N., Cardona, A., Zlatic, M., Sprecher, S.G., Gershow, M., Garrity, P.A. & Samuel, A.D. Sensory determinants of behavioral dynamics in *Drosophila* thermotaxis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, E220-229 (2015).
17. Knecht, Z.A., Silbering, A.F., Ni, L., Klein, M., Budelli, G., Bell, R., Abuin, L., Ferrer, A.J., Samuel, A.D., Benton, R. & Garrity, P.A. Distinct combinations of variant ionotropic glutamate receptors mediate thermosensation

and hygrosensation in *Drosophila*. *eLife* 5 (2016).

18. Choi JC, Park D, Griffith LC. Electrophysiological and morphological characterization of identified motor neurons in the *Drosophila* third instar larva central nervous system. *J Neurophysiol* 2004 May;91(5):2353-65.

19. Pfeiffer BD, Ngo TT, Hibbard KL, Murphy C, Jenett A, Truman JW, Rubin GM. Refinement of tools for targeted gene expression in *Drosophila*. *Genetics*. 2010 Oct;186(2):735-55

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)