

Neuronal Architecture and Connectome of the Clamp Region in the Adult *Drosophila* Brain

Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades

Der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

Der Universität zu Köln

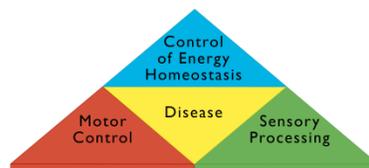


Vorgelegt von

Jonas Mario Klussmann

Aus Köln, Deutschland

Angenommen im Jahr 2025



RTG-NCA | RTG 1960

Begutachtung:

Prof. Dr. Kei Ito

Prof. Dr. Ansgar Büschges

Abstract

The fruit fly *Drosophila melanogaster* is a popular model organism that has been the subject of many studies trying to elucidate how the brain integrates sensory input and generates appropriate motor output. However, previous research tends to focus on a few, well-investigated brain regions like the mushroom body (MB), antennal lobe (AL) or the central complex. To expand our understanding of how the brain computes on a larger scale also the remaining less-investigated “terra incognita” of the brain must be explored. One of these yet undescribed regions is the clamp (CL) region, which is located between the central complex and the mushroom body pedunculus (MB PED). The circuitry and potential functions of the region remain completely unknown until now. However, its central location in the brain suggests that diverse signals for sensory and motor computation must be processed in this region. To reconstruct a neuronal circuit map of the CL the hemibrain electron microscopy (EM) connectome data generated at the HHMI Janelia Research Campus was analyzed. In total 750 neurons that are defined as CL neurons and additional 7,221 neurons that are associated with other brain regions but have significant arborizations in the CL were investigated. To identify the structures formed by sets of neurons, a hierarchical classification system was established. This neuronal classification system is inspired by the Linnaean classification system and consists of families, orders and classes. Each level of classification focusses on another morphological aspect to group neurons. Here the global morphology, arborizations within newly identified microcompartments as well as neighboring brain regions and finally the internal branching pattern within the CL were considered. In this endeavor both manual, as well as automated clustering based on the NBLAST algorithm were integrated. Detailed neurite structures were compared by expanding neurons virtually to the size of several meters using the Cave Automatic Virtual Environment (CAVE) 3D VR system. This examination revealed so far unknown neuronal pathways, not only within the CL but also in neighboring brain regions. Finally, 33 descending neurons arborizing in the CL with projections to the ventral nerve cord (VNC) were analyzed. In summary this work will form the basis for understanding the structure, as well as the function of the clamp region, adding a new piece to the map of the *Drosophila* brain.

Zusammenfassung

Die Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* ist ein beliebter Modellorganismus, der in zahlreichen Studien untersucht wurde, um zu verstehen wie das Gehirn sensorische Stimuli integriert und entsprechende motorische Signale generiert. Die bisherige Forschung konzentriert sich jedoch hauptsächlich auf einige wenige, gut untersuchte Hirnregionen wie den Pilzkörper, den Antennallobus oder den Zentralkomplex. Um zu verstehen, wie das Gehirn als Ganzes arbeitet, muss jedoch auch die verbliebene, weniger erforschte „terra incognita“ des Gehirns erkundet werden.

Eine der bisher noch unbeschriebenen Regionen ist die CL, die sich zwischen dem Zentralkomplex und dem Pilzkörper pedunculus befindet. Der Aufbau und die potenziellen Funktionen dieser Region sind bisher noch völlig unbekannt. Seine zentrale Lage im Gehirn legt jedoch nahe, dass in dieser Region verschiedene sensorische und motorische Signale verarbeitet werden. Um eine Karte der neuronalen Netzwerke der CL zu rekonstruieren, wurden die elektronenmikroskopischen Konnektomdaten des Hemibrain analysiert, die am HHMI Janelia Research Campus erstellt wurden. Insgesamt wurden 750 Neuronen, die als CL-Neuronen definiert sind, untersucht. Zusätzlich wurden 7.221 Neuronen analysiert, die mit anderen Hirnregionen assoziiert sind, aber signifikante Verzweigungen in der CL aufweisen. Um die von Gruppen von Neuronen gebildeten Strukturen zu identifizieren, wurde ein hierarchisches Klassifizierungssystem erstellt. Dieses neuronale Klassifizierungssystem ist an das von Carl Linné vorgestellte Klassifizierungssystem angelehnt und besteht aus Familien, Ordnungen und Klassen. Jede Klassifizierungsebene konzentriert sich auf einen anderen morphologischen Aspekt zur Gruppierung der Neuronen. Hier wurden die globale Morphologie, Verzweigungen innerhalb neu identifizierter Mikrokompartimente sowie benachbarter Hirnregionen und schließlich das interne Verzweigungsmuster innerhalb der CL berücksichtigt. Dabei wurden sowohl manuelles als auch automatisiertes Clustering auf der Basis des NBLAST Algorithmus integriert. Detaillierte Strukturen wurden verglichen, indem Neuronen mit Hilfe des 3D-VR-Systems Cave Automatic Virtual Environment (CAVE) virtuell auf eine Größe von mehreren Metern vergrößert wurden. Diese Untersuchung offenbarte bisher unbekannte neuronale Trakte innerhalb der CL und in benachbarten Hirnregionen. Schließlich wurden 33 absteigende

Neuronen analysiert, die in der CL verzweigen und Projektionen zum ventralen Nervenstrang aufweisen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Arbeit die Grundlage für das Verständnis der Struktur sowie der Funktion der clamp bildet und einen neuen Abschnitt zur Karte des *Drosophila* Gehirns beiträgt.