

Metamorphosis of Dopamine Neuron Circuits and Behavioral
Consequences of Erroneous Development of Targeted
Mushroom Body Compartments

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Anne Sophie Oepen

Aus Düren, Deutschland

Köln, Oktober 2024

1. ABSTRACT

According to the drastic differences in the environmental requirements of larval and adult *Drosophila* and the concomitant changes in body morphology from larva to imago, the central nervous system needs severe adjustments and reorganization. This study investigated the developmental strategies underlying neuronal remodeling during *Drosophila* metamorphosis, focusing on neuropil formation, dopaminergic neuron (DAN) development, and the role of specific genes in DAN circuit assembly. To achieve comparability between developmental stages, nine reference brains were generated throughout pupation, using N-cadherin as a marker, enabling detailed tracking of neuropil development from 6 to 72 hours after puparium formation (APF). This study indicates diverse developmental strategies among neuropils. Structures like the mushroom body (MB) and central complex (CX) underwent a substantial transformation, while consistent neuropils such as the ventrolateral neuropils (VLNP) primarily expanded. The antennal lobe (AL) transitioned from rudimentary to near-maturity between 24 and 48 hours APF. Five distinct patterns of DAN development were identified in correlation to their target-neuropils: (1) consistent innervation, (2) diverse innervation strategies within one cluster innervating different target-neuropils, (3) neuronal pruning and trans-differentiation, (4) newly formed clusters innervating adult specific neuropils, and (5) target-dependent apoptosis. These patterns suggested complex neuron target-neuropil communication mechanisms, reflecting the intricate interplay between neuropil and DAN development. To investigate the consequences of aberrant development of target-neuropils for DANs, I examined a *dpr12* indel mutant. This mutant exhibited defects in γ -Kenyon cell regrowth during metamorphosis, resulting in incomplete extension of γ -axons into the distal γ 4/5 compartments of the adult MB. The defect correlated with disruptions in courtship learning and appetitive short-term memory formation, whereas other forms of short-term memory, mainly aversive learning, e.g., aversive gustatory or aversive olfactory learning, remain unaltered. This study indicates an increased spontaneous locomotion in young *dpr12* indel mutants, which is adjusted to the wild-type locomotion after 5 days, suggesting compensatory mechanisms or altered plasticity after hatching. This research provides insights into the diverse developmental strategies employed during *Drosophila* brain metamorphosis and the role of specific genes in neuronal circuit formation. The reference brains and detailed analysis of DAN development pave the way for future investigations on neural circuit assembly and the developmental assembly of functional neuron circuits.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Aufgrund der drastischen Unterschiede in den Umweltanforderungen larvaler und adulter *Drosophila* und den damit einhergehenden Veränderungen der Körpermorphologie bedarf das zentrale Nervensystem erhebliche Anpassungen und Reorganisationen. Diese Studie untersuchte die entwicklungsbiologischen Strategien, die der neuronalen Umgestaltung während der Metamorphose zugrunde liegen, mit Fokus auf Neuropilbildung, Entwicklung dopaminerge Neurone und die Rolle spezifischer Proteine beim Aufbau neuronaler Schaltkreise. Um die Vergleichbarkeit zwischen Entwicklungsstadien zu gewährleisten, wurden neun Referenzgehirne während der Verpuppung generiert, wobei N-Cadherin als Marker diente. Dies ermöglichte eine detaillierte Verfolgung der Neuropilentwicklung von 6 bis 72 Stunden nach Puppenbildung. Die Studie zeigt diverse Entwicklungsstrategien unter den Neuropilen auf. Strukturen wie der Pilzkörper und der Zentralkomplex durchliefen eine substanzielle Transformation, während konsistente Neuropile wie die ventrolateralen Neuropile primär expandieren. Der Antennallobus entwickelt sich zwischen 24 und 48 Stunden nach Verpuppung von rudimentär zu nahezu ausgereift. Fünf Muster der Entwicklung der dopaminergen Neurone wurden in Korrelation zu ihren Zielneuropilen identifiziert: (1) konsistente Innervation, (2) diverse Innervationsstrategien innerhalb eines Clusters, das verschiedene Zielneuropile innerviert, (3) neuronales Pruning und Transdifferenzierung, (4) neu gebildete Cluster, die adulte Neuropile innervieren, und (5) zielabhängige Apoptose. Diese Muster deuten auf komplexe Neuron- Zielneuropil-Kommunikationsmechanismen während der Entwicklung hin. Zur Untersuchung der Konsequenzen einer fehlerhaften Entwicklung von Zielneuropilen für dopaminerge Neurone wurde eine *dpr12*-indel Mutante analysiert. Diese Mutante zeigt Defekte im Nachwachsen der γ -Kenyon-Zellen während der Metamorphose, was zu einer unvollständigen Ausdehnung der γ -Axone in die distalen $\gamma 4/5$ -Zonen des adulten Pilzkörpers führt. Der Defekt korreliert mit Störungen im Balzlernen und der appetitiven Kurzzeitgedächtnisbildung, während anderen Formen des Lernens, z.B. gustatorisches oder olfaktorisches aversives Lernen, unverändert bleiben. Diese Forschung liefert Einblicke in die vielfältigen Entwicklungsstrategien während der Metamorphose und die Rolle spezifischer Proteine bei der neuronalen Schaltkreisbildung. Die Referenzgehirne und die detaillierte Analyse der Entwicklung der neuronalen Neurone ebnet den Weg für zukünftige Untersuchungen zum Aufbau neuronaler Schaltkreise und der entwicklungsbiologischen Zusammensetzung funktioneller neuronaler Schaltkreise.