

分析

通过解释神经元接线图来预测视觉功能

<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07953-5>

H. Sebastian Seung¹

收到日期:2023 年 11 月 15 日

接受日期:2024 年 8 月 15 日

在线出版:2024 年 10 月 2 日

开放获取



随着连接组学的发展,了解神经系统的结构远多于了解其功能将变得司空见惯。许多研究的起点将是神经元接线图,这些图将被解释为对功能做出理论预测。在这里,我以果蝇视叶为例展示了这种新兴方法,分析其结构以预测三种 Dm3 (参考文献 1-4)和三种 TmY (参考文献 2,4)细胞类型是发挥形式视觉功能的电路的一部分。受体场是根据连接性预测的,表明细胞类型编码了视觉刺激的局部方向。Extraclassical^{5,6}

还预测了接受域,这对稳健的方向调整⁷、位置不变性^{8,9}和噪声或虚幻轮廓的完成^{10,11}具有影响。TmY类型突触到从视叶投射到中央大脑^{12,13}的神经元上,据推测这些神经元可以计算定向特征的结合和分离。

我的预测可以通过神经生理学进行测试,这将限制 fy vision¹⁴的神经网络模型中的参数和生物物理机制。

果蝇大脑视叶中的 40,000 个神经元^{15–17}现已完全分为细胞类型⁴。尽管视叶固有的 200 多种细胞类型已通过结构分析明确定义,但它们在很大程度上仍不清楚,因为只有不到 20% 的细胞的视觉反应被神经生理学家记录下来。目前,大多数视觉细胞类型的在线目录(https://codex.flywire.ai/app/optic_lobe_catalog)是一个神秘的、没有功能的结构博物馆。

flywire.ai/app/optic_lobe_catalog)是一个神秘的、没有功能的结构博物馆。

一个很好的例子是 Dm3,这是远端髓质固有的三种神经元细胞类型。Dm3 细胞呈切向方向 (图 1a),与从髓质投射到其他神经纤维网的柱状细胞正交 (图 1a)。这三种 Dm3 类型很容易区分,因为它们的树突指向三个方向⁴ (图 1b-d 和方法)。有关细胞和通路的交互式可视化,请参阅补充数据 1 中的 URL。

Dm3 最初于 1970 年在双翅目昆虫中被发现,被称为线状无长突细胞¹。1989年在果蝇中被命名为 Dm3²,并于 2015 年分裂成两种类型^{3,18,19}。最近在一次大规模连接组学普查中发现了第三种 Dm3 类型⁴。生理学家从未报告过 Dm3 视觉反应的记录。Dm3 的功能仍然未知。

我将首先尝试从结构预测 Dm3 功能。连接组学领域的发展源于这样一种信念:大脑的计算能力在很大程度上取决于连接组^{20,21}。事实上,现在已知神经回路功能 (例如视觉运动²²、前进方向²³以及奖惩信号²⁴的计算)是由果蝇大脑中的特定神经连接模式支持的。这些结构解释的成功是在神经生理学家已经确定了回路功能^{25–27}之后取得的。本研究试图超越事后解释。我应对事前预测功能的挑战,这是对结构-功能关系力量的更严格测试。

Dm3 感受野的预测

视觉神经元的受体场传统上被定义为“视网膜中必须被照亮才能获得响应的区域”²⁸。我通过映射来自 Tm1 的输入连接来预测 Dm3 受体场, Tm1 是一种与复眼的六边形像素——对应的细胞类型 (方法)。Tm1是 Dm3 的最强输入 (扩展数据图 1a,c),而 Dm3 是Tm1 的强输出 (扩展数据图 2d)。图 1e 显示了一个典型的Dm3 细胞,它在三个共线列中接收强 Tm1 输入,即使该细胞延伸到许多列 (图 1b-d)。

每个 Dm3v 细胞突触前的 Tm1 细胞被映射到六边形格子中 (图 1f,方法和补充数据 2)。每个六边形的颜色表示 Dm3v 细胞从 Tm1 细胞接收的突触数量。对齐 (图 1g)并平均所有图谱可得出平均 Tm1–Dm3v 输入图 (图 1b 插图)。

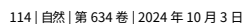
对所有三种 Dm3 类型重复此过程。得到的平均图 (图 1b-d 插图)显示,三种 Dm3 类型与六边形晶格的三个基本方向对齐²⁹

(图 1f 中的 p、q 和 v 轴)。单个 Dm3 细胞的单个图中可以看到细胞间差异 (图 1g 和补充数据 3)。为了量化差异性,每个 Tm1–Dm3 连接图都近似为椭圆 (图 1g,h)

和方法)。Dm3 种群的角取向分布重叠很小 (图 1i),中值角接近六边形晶格的基本取向。所有 Dm3 种群的椭圆的纵横比中值均接近 4 (图 1j)。

为了进一步表征预测的感受野的大小和形状,计算了 Tm1–Dm3 图的一维 (1D) 投影 (图 1k-m)。纵向和横向投影提供了有关预测感受野的长度和宽度的信息,

¹美国新泽西州普林斯顿大学神经科学研究所和计算机科学系。电子邮件: sseung@princeton.edu



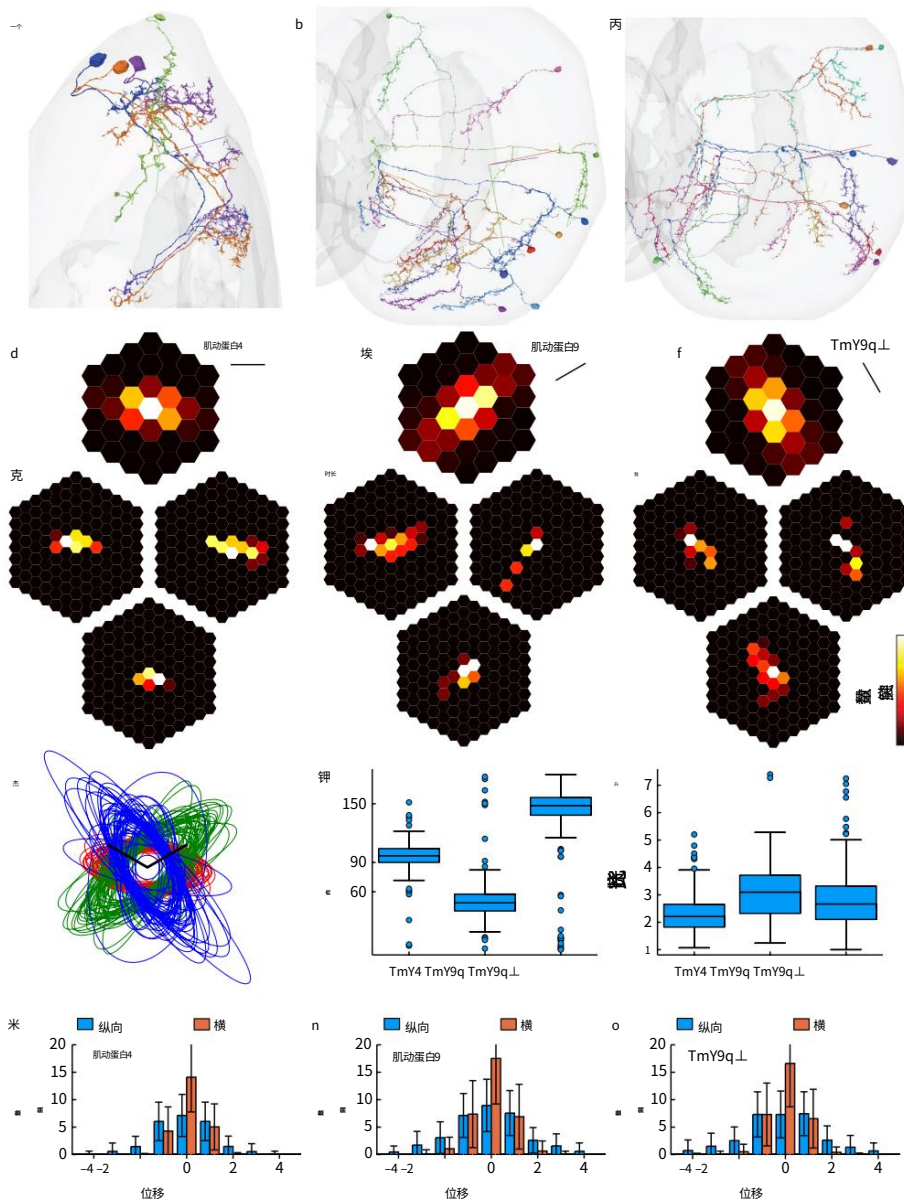


图 2 | 通过映射突触前 Tm1 细胞预测 TmY 感受场。
a, TmY4 细胞突触前至 Dm3v 细胞 (绿色)。远端延髓中的 TmY4 树突呈水平方向, 通常对称延伸在主干的两侧。b, 远端延髓中的 TmY9q 树突指向后腹方向, 大致与 Dm3q 树突反方向平行。c, TmY9q 比例尺, 一个晶格常数 (p 轴和 q 轴)。k, 椭圆方向。正角相对于垂直轴 (0°) 顺时针旋转。l, 椭圆纵横比。m-o, 平均感受野预测在纵轴和横轴上的一维投影: TmY4 (m) 为水平、垂直; TmY9q (n) 为 q、q; TmY9q (o) 为 q、q。纵向 (横向) 位移的单位是 n 的晶格常数 ($\times 3/2$), m, o 则反之亦然; 也就是说, 纵向和横向单位互换。误差线表示 TmY 细胞之间的标准差。a-c 中的十字线分别为横向 (红色)、腹侧 (绿色) 和蓝色 (后部)。

远端延髓中的树突指向后腹方向, 大致与 Dm3q 和 TmY9q 树突正交。d-f, TmY4 (d)、TmY9q (e) 和 TmY9q (f) 的预测受体场, 按细胞平均计算。g-i, 通过映射突触前 Tm1 细胞, 在对齐和裁剪后预测单个 TmY4 (g)、TmY9q (h) 和 TmY9q (i) 细胞的受体场。热图表示突触数。j, 与单个 TmY4 (红色)、TmY9q (绿色) 和 TmY9q (蓝色) 细胞的预测受体场对齐的椭圆近似值。

热图最大值 (白色) 从底部顺时针方向依次为 5.3、4.8 和 4.8 个突触 (d-f)。211 个 TmY4、172 个 TmY9q 和 189 个 TmY9q 细胞的统计数据; j 中显示了 50 个细胞的随机子集。箱线图惯例与图 1 相同。有关细胞的交互式可视化, 请参阅补充数据 1。

定向, 在主干两侧对称延伸 (图 2a)。TmY9 被拆分为 TmY9q 和 TmY9q (方法)。在远端髓质中, 两种 TmY9 类型的树突均沿 q 和 q 不对称地指向主干的一侧方向。

Tm1 是 TmY4 和 TmY9 的主要输入之一 (扩展数据图 4 和 5)。我再次通过映射 Tm1 输入来预测感受野。平均图有三个不同的方向 (图 2d-f)。细胞间变异 (图 2g-i 和补充数据 4) 可视化

通过近似椭圆 (图 2j)。TmY4 和 TmY9q 椭圆的中位取向与六边形晶格的水平和 q 取向非常接近 (图 2k)。TmY9q 椭圆的中位取向介于 q 和 p 取向之间, 更接近 q (图 2k)。粗略地说, 每个 TmY 取向都与 Dm3 取向之一正交, 尽管 TmY9q 和 Dm3p 的正交性并不完美。椭圆的纵横比表示各向异性的程度 (图 2l)。Tm1-TmY 图的纵向和横向一维投影 (图 2m-o) 提供了互补

分析

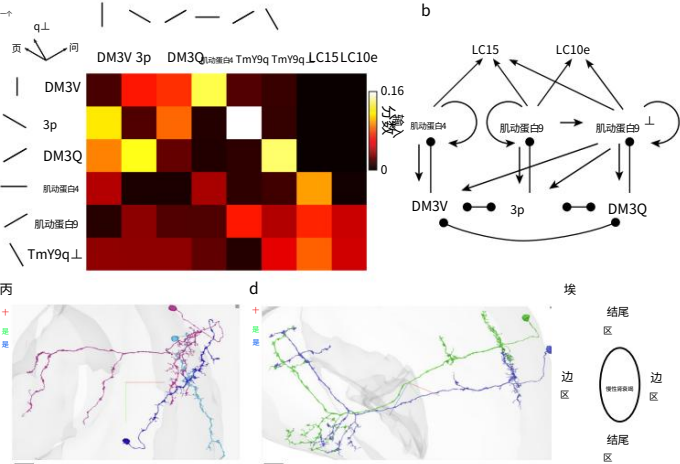


图 3 | Dm3、TmY 和 LC 细胞类型之间的连接。a, 类型到类型的连接矩阵作为热图, 指示来自突触前类型 (行) 的输入突触到突触后类型 (列) 的比例。

在每个类型名称旁边, 都有一条线段表示远端延髓中的树突方向。b, a 中的类型到类型连接图代表了至少 3% 的输入突触到突触后目标类型。

以箭头 (圆圈) 结尾的线表示假定为兴奋性 (抑制性) 的连接。Dm3 细胞倾向于与具有正交或大致正交树突的 Dm3 和 TmY 细胞进行突触。TmY 细胞大多倾向于与相同类型的 TmY 细胞进行突触, 但 TmY9q 也与 TmY9q 进行突触。TmY4 和 TmY9q 倾向于与具有正交树突的 Dm3 细胞进行突触, 但 TmY9q 会与所有 Dm3 类型进行突触。LC15 接收来自所有 TmY 类型的输入, 而 LC10e 接收来自 TmY9q 和 TmY9q 的输入。c, Dm3q-Dm3p-TmY9q 通路。假设 Dm3 具有抑制作用, Dm3q (蓝色) 通过中间 Dm3p (青色) 解除 TmY9q (紫色) 的抑制。

Dm3p 也与 Dm3q 形成突触, 因此它们是相互连接的。d, 一对 TmY4 细胞具有强 (>4 个突触) 相互连接。e, 生理学家已经证明, 对 CRF 内部呈现的刺激神经反应可能会受到 CRF 外部呈现的刺激的调节^{5,6}。

效应的大小和符号通常取决于调节刺激是位于定向 CRF 的末端区域还是侧面区域。

效果也可能取决于调节刺激的其他属性, 例如其方向或对比值。正交投影 (c, d) 中的比例尺为 10 μm 。十字线为侧向 (红色)、腹向 (绿色) 和后向 (蓝色)。

有关 c 中的通路和 d 中的细胞的交互式可视化, 请参阅补充数据 1。

分别关于预测感受野的长度和宽度的信息。

从这些受体场的估计来看, TmY4、TmY9q 和 TmY9q 预测分别偏好水平、q 和 q 方向的视觉刺激。根据其强大的 Tm1 输入, 预测 TmY4 和 TmY9 为 OFF 细胞, 尽管它们也接收来自 ON 六角形类型 Mi1 的输入 (扩展数据图 4 和 5)。补充数据 4 中映射了来自 Tm1、Mi1 和其他六角形类型的单个 TmY 细胞的单突触输入。

Dm3 和 TmY 类型之间的连接

Dm3 和 TmY 神经元也相互连接 (图 3a 和扩展数据图 1.4 和 5)。根据电子显微照片和转录组数据的证据, Dm3 被认为对其他细胞的突触作用具有抑制作用, 而 TmY 被认为具有兴奋作用 (方法)。

每种 Dm3 类型都会避免与同类型的细胞进行突触, 而倾向于与其他两种具有不同树突方向的 Dm3 类型进行突触 (图 3a)。每种 Dm3 类型都倾向于与具有正交树突方向的单个 TmY 类型进行突触 (图 3a)。

因此, Dm3 输出连接符合交叉方向

抑制是 50 多年前针对视觉皮层提出的连接主题^{34,35}。

TmY 细胞倾向于与同一类型的 TmY 细胞进行突触传递 (图 3a)。因此, TmY-TmY 连接大致符合等方向激发, 这是 40 多年前针对视觉皮层提出的连接主题⁸。

此外, 从 TmY9q 到 TmY9q 的连通性有些弱 (图 3a)。

TmY4 和 TmY9q 细胞突触到正交方向的 Dm3 细胞上 (图 3a)。相比之下, TmY9q 则没有偏好, 突触到所有方向的 Dm3 细胞上 (图 3a)。因此, TmY 到 Dm3 的连接是交叉方向和无差别连接的结合。

图 3b 以示意图形式表示了上述连接模式。这实际上是图 3a 的阈值版本, 将在后续分析中使用。

图 3c 显示了 Dm3 细胞突触至另一个 Dm3 细胞, 而后者又突触至 TmY 细胞。图 3d 显示了相互连接的 TmY4 细胞。这些可视化表明连接的细胞之间存在空间关系 (扩展数据图 6), 而这些关系无法通过群体级接线图 (图 3a, b) 描述。下面将预测这些空间关系对细胞视觉反应的影响。

Dm3 超经典受体场

图 1 和图 2 中的受体场预测是针对“经典”受体场 (CRF) 的。对于某些视觉神经元, 刺激 CRF 以外的区域可能会调节对 CRF 刺激的反应⁵。这些区域有时被称为“非经典”受体场 (ERF)。根据定义, 单独刺激 ERF (不使用 CRF) 不应引起任何反应。ERF 刺激引起的调节量可能取决于调节刺激的方向、对比度或其他特性⁶。靠近纵轴的定向 CRF 外部的区域称为端区, 靠近横轴的位置称为侧区 (图 3e)。

我提出, Dm3 细胞的 ERF 由 Tm1 到 Dm3 的双突触通路决定。(这是一个概念上的飞跃, 潜在的陷阱将推迟到题为“预测及其局限性”的部分)。

我寻找了具有最大解剖强度的此类通路。简而言之, A 到 B 连接的强度定义为 A 型细胞向 B 型细胞提供的输入突触的比例。A 到 B 到 C 双突触通路的强度则定义为 A 到 B 和 B 到 C 强度的乘积。有关此强度估计及其局限性的详细信息在方法中给出。

绘制了从 Tm1 到 Dm3 的强双突触通路 (方法、扩展数据图 7 和补充数据 3), 并在 Dm3 细胞中进行了对齐和平均 (图 4a-c)。对于每种 Dm3 类型, 平均双突触通路图与平均预测 CRF 重叠 (图 1b, c), 但也超出了它。每个双突触通路图的 CRF 以外的部分将被视为预测 ERF 的组成部分。从今以后, “pERF”和“pCRF”将分别用作预测 ERF 成分和预测 CRF 的缩写。

由于地图没有清晰的边界, 为了定义超出 CRF 的区域, 它们将被近似为椭圆 (图 4a-c)。

对于每种 Dm3 类型, 最强的两个 pERF 来自其他两种 Dm3 类型。它们大多延伸到 pCRF 的侧区 (图 4a-c), 并且预计具有抑制作用, 因为 Dm3 被认为是抑制性的。这种交叉方向抑制可能具有增强方向调谐的功能⁷。

下一个最强的 pERF 由 T2a 介导, 并且预计会起促进作用, 因为 T2a 被认为是兴奋性的 (方法)。T2a 介导的平均 pERF 覆盖 Dm3v pCRF 的两个末端区域 (图 4c), 并且主要覆盖 Dm3p 和 Dm3q pCRF 的后端区域 (图 4a, b)。单个 Dm3 细胞的 Tm1-T2a-Dm3 图的椭圆近似表明它们的方向趋于相似

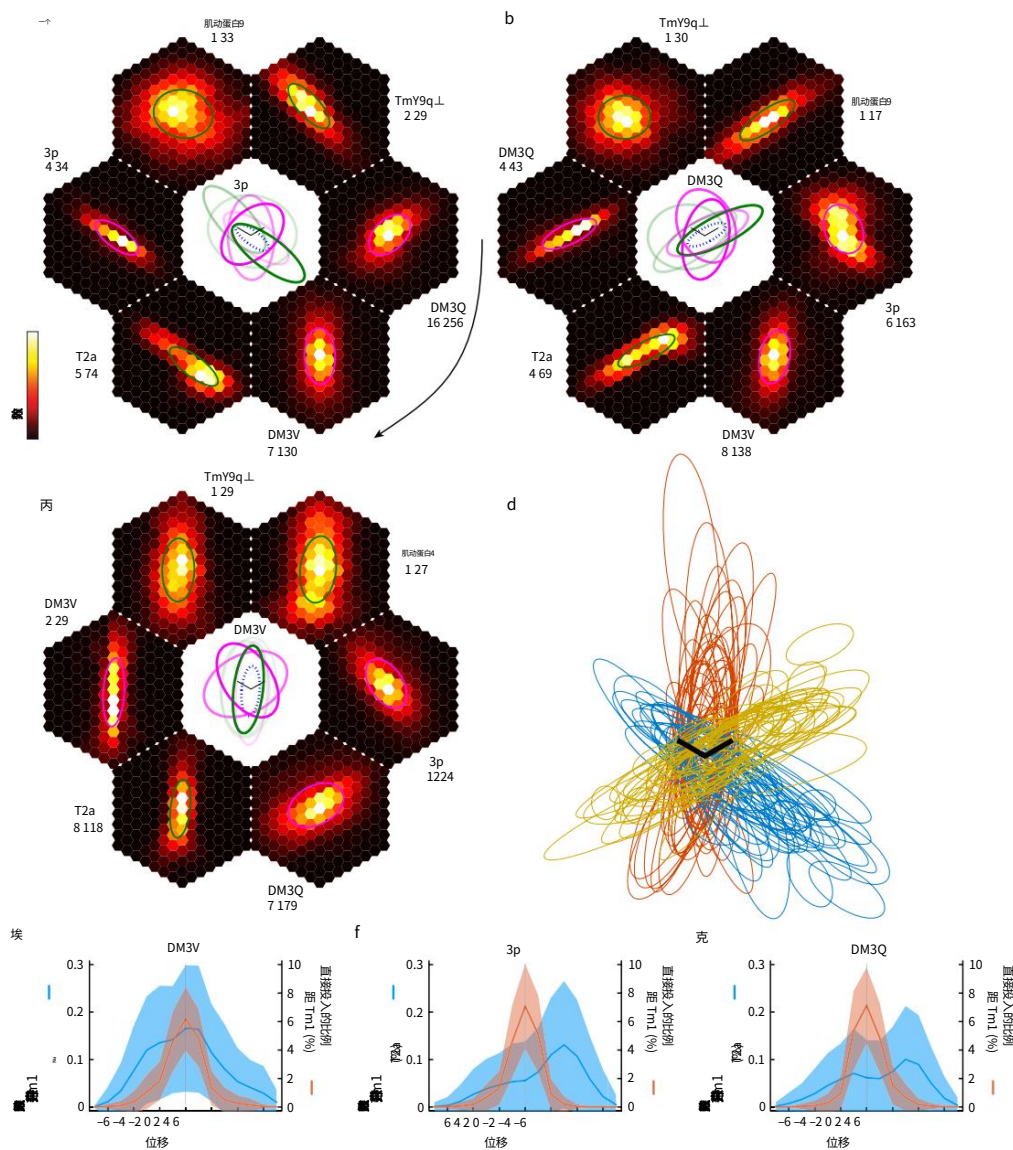


图 4 | 通过映射双突触通路预测 Dm3 ERF。a-c, 从 Tm1 到 Dm3 的双突触通路热图 (六边形), 在 Dm3p (a)、Dm3q (b) 和 Dm3v (c) 细胞上对齐并取平均值。双突触图 pCRF 之外的部分是预测的 ERF 成分, 由命名的中间类型介导 (图旁的文本)。通路按解剖强度顺时针排列 (弯曲箭头) (扩展数据图 7, 绿线)。

数字表示以 0.01% 为单位的突触输入分数。热图最大值 (白色) 和六角形上的空间总和。对于每种 Dm3 类型, 前两种通路由其他两种 Dm3 类型介导, 第三强通路由 T2a 介导。椭圆近似值叠加在每个地图上, 洋红色 (绿色) 表示假定的抑制 (兴奋) 通路。中心: 再次显示椭圆, 锚定在平均 pCRF 上

与 Dm3 pCRF 的图谱相似 (图 4d)。对于一些 Dm3p 和 Dm3q 细胞, Tm1-T2a-Dm3 图谱较小, 位于 pCRF 末端区域, 与 pCRF 完全不重叠。这在平均 Tm1-T2a-Dm3 图谱中显示为热点 (图 4a,b)。

平均 Tm1-T2a-Dm3 图的一维投影 (图 4e-g) 显示, 它们往往比 pCRF 更长, 并且导致 pERF 偏向于 Dm3p (图 4f) 和 Dm3q (图 4g) 的后 pCRF 末端区域。

从 Tm1 到 Dm3 的其余双突触通路在解剖强度上明显较弱 (扩展数据图 7), 但为了完整性, 我们还是将它们包括在内, 因为它们可能会变成

(虚线椭圆) 并放大 1.5 倍以便于观察。椭圆不透明度表示相对于最强抑制 (洋红色) 或兴奋 (绿色) 通路的解剖强度。d, 与 Tm1-T2a 对齐的椭圆近似值

50 个代表性 Dm3p (蓝色)、Dm3q (金色) 和 Dm3v (棕色) 细胞的 Dm3 图。e-g, T2a 介导的从 Tm1 到 Dm3 的双突触图超出了 pCRF, 如平均图的 1D 纵向投影所示。预测 Dm3v (e) 的两个 pCRF 末端区均存在 pERF 成分, 而 Dm3p (f) 和 Dm3q (g) 的后端区主要存在 pERF 成分。位移单位为晶格常数。色带表示 Dm3 细胞之间的标准偏差。Dm3 和 Tm1 样本大小与图 1 中相同, 包括 866 个 T2a 细胞。比例尺 (a-c 中心, d), 一个晶格常数 (p 和 q 轴)。

生理上, 很难预测抑制和促进 pERF 重叠位置的总体效果。我预测抑制将在 pCRF 侧区中突出, 其中 Dm3 介导的 pERF 似乎在数值上更强。在末端区域, T2a 介导的 pERF 在很大程度上不受抑制的抵抗, 并且应该导致不选择性地定向对比促进

调节刺激。
补充数据 3 中提供了单个 Dm3 细胞的 pERF。
同一类型的细胞之间存在相当大的差异, 但平均 pERF 中明显的几何关系对于许多单个细胞确实成立。

分析

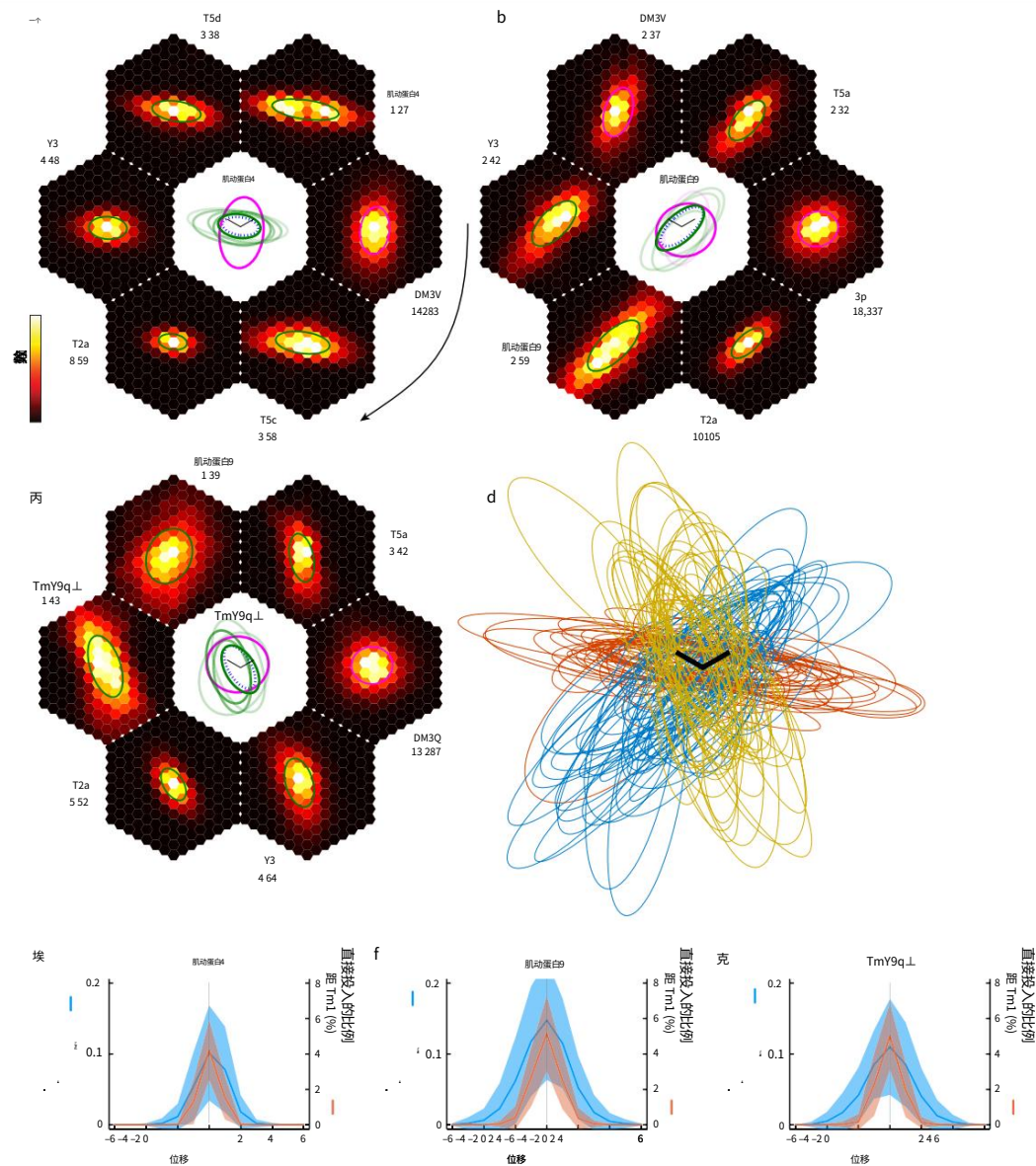


图 5 | 通过映射双突触通路预测的 TmY ERF。a-c, 从 Tm1 到 TmY4、TmY9q 和 TmY9q 的双突触通路热图, 在目标细胞上对齐并取平均值。双突触图在 pCRF 之外的部分是预测的 ERF 成分, 由命名的中间类型介导 (图旁边的文本)。通路按解剖强度顺时针排列 (弯曲箭头) (扩展数据图 7, 绿线)。数字表示以 0.01% 为单位的输入分数: 热图最大值 (白色) 和六边形上的空间总和。对于每种 TmY 类型, 顶部通路由正交 Dm3 类型介导, 并被推测为抑制性的。其余通路被推测为兴奋性的。椭圆近似值叠加在每个平均图上, 洋红色 (绿色) 表示推测的路径

抑制 (兴奋)。中心: 再次显示椭圆, 锚定在平均 pCRF (虚线椭圆) 上, 并放大 1.5 倍以便于查看。椭圆不透明度表示相对于最强抑制 (洋红色) 或兴奋 (绿色) 通路的解剖强度。d, 与 Tm1-TmY9q-TmY9q (蓝色)、Tm1-TmY9q-TmY9q (金色) 和 Tm1-TmY4-TmY4 (棕色) 双突触图对齐的椭圆近似值; 每个 50 个代表性细胞。例如, 双突触 (Tm1-TmY-TmY) 图超出 pCRF, 如平均图的 1D 纵向投影所示。预测两个 pCRF 末端区域均存在 pERF 分量。位移单位为晶格常数 $\times 3/2$ 。条带表示 TmY 单元格之间的标准差。TmY 和 Tm1 样本大小如图 2 所示。

TmY 经典外受体场

我通过考虑从 Tm1 到 TmY 类型的双突触通路来预测 TmY 细胞的 ERF。最强的通路由 Dm3 介导 (扩展数据图 7), 产生的 pERF 主要覆盖 pCRF 侧区, 预计具有抑制作用 (图 5a-c)。这种交叉方向抑制可能具有增强方向调谐的功能⁷。

在促进作用较弱的 pERF 中 (图 5a-c 和扩展数据图 7), TmY-TmY pERF 延伸到 pCRF 末端区域最远 (图 5a-c)。椭圆近似显示了变异程度

比例尺 (a-c 中心, d), 一个晶格常数 (p 和 q 轴)。

跨细胞 (图 5d)。1D 投影显示 pERF 延伸到两个末端区域 (图 5e-g)。该途径可能导致末端区域中的同向促进, 因为 TmY-TmY 连接位于相同 TmY 类型之间。

将促进 TmY-TmY pERF 扩展到 pCRF 末端区域与 TmY-TmY 连接有助于完成嘈杂或虚幻轮廓的想法一致。视觉皮层中类似的“共线促进”已被提出用于完成嘈杂或虚幻轮廓, 因为从图像接收弱或模糊输入的方向检测器可以通过来自邻近方向检测器的激励超过阈值^{10,11,36}。

TmY–TmY pERF 也略微延伸到 pCRF 侧区。
这与 TmY-TmY 连接可以产生位置不变性同时保持方向选择性的想法一致8,9。

补充数据 4 中提供了单个 TmY 细胞的 pERF 和 pCRF。平均 pERF 中明显的几何关系对许多单个细胞确实成立。

空间规范化的预测

上文预测 TmY pERF 是由终止于 TmY 的双突触通路所致,但三突触或更长的通路也可能有贡献。特别令人感兴趣的是 Tm1–TmY–Dm3–TmY,这涉及Dm3 对 TmY 的反复抑制。预计该通路会贡献位于 pCRF 远端区域并调节至优选方向的抑制性 pERF (补充数据 4)。在近端区域,该通路可能被 Tm1–TmY–TmY 引起的促进性 pERF 所掩盖 (图 5a–c 和补充数据 4)。

在 Dm 中间神经元家族的许多类型中都发现了类似的兴奋-抑制基序,可以将其视为实施空间标准化,这是图像处理中的常见计算 37。抑制神经元汇集某些空间邻域的兴奋神经元活动,并将循环抑制发送回相同的兴奋神经元。这里的一个不寻常的方面是,在优先方向上并排刺激的情况下, Tm1-TmY-Dm3-TmY 通路中的循环抑制与 Tm1-TmY-TmY 通路中的循环兴奋相反。

离开视叶的通路

我曾预测三种 Dm3 和三种 TmY 类型会选择性地对视觉刺激的局部方向做出反应。这被概念化为将图像分解为边缘或条形等小方向元素,类似于计算机科学中早期的视觉处理38

以及视觉皮层模型39。在此类模型中,局部方向的计算是后续处理步骤识别所有视觉形式的一般起点。

类似地,果蝇大脑可能会利用局部刺激方向的信息来形成视觉。TmY 细胞突触到许多视觉投射神经元 (VPN),这些神经元从视叶投射到大脑中央。我将重点介绍其中数量最多的 VPN

类型,LC15 和 LC10e,每个约有 50 个细胞 (图 6 和补充数据 5)。这些特别有趣,因为它们保留了更多关于位置的信息,因此可能更有助于识别复杂的视觉形式。相比之下,其他 VPN 通过在空间上广泛汇集而丢弃了更多关于位置的信息,将在其他地方进行研究。

LC15 方向不变性

LC15 神经元从小叶投射到后腹外侧原大脑 (PVLP),这是大脑中枢的神经纤维网 13 (图 6a)。LC15 接收来自所有三种 TmY 类型的输入 (图 6a 和扩展数据图 4.5 和 8)。

从六边形类型到 LC15 的直接连接很弱或不存在,因此这里映射了顶部的双突触通路以预测特征选择性 (扩展数据图 7)。对齐和平均地图得到图 6b。单个细胞的地图在补充数据 5 中,并在图 6c 中用椭圆总结。

鉴于来自所有三个方向的 TmY 细胞的 LC15 输入是无差别的,因此很自然地可以推断 LC15对任何方向都会无差别地做出反应,从而检测三个通道中活动的分离 (逻辑或)。如果 TmY 方向调节足够广泛,则LC15 应该被任何方向的刺激激活。

事实上,LC15 视觉反应记录表明,任何方向的条都可以激活 LC1540,41。

其他强的双突触通路中介包括 T3、Tm25 和 Tm21 (图 6b 和扩展数据图 7)。已知 T3 是小物体检测器42,而 Tm25 和 Tm21 可能是物体检测器 (基于它们的连通性4)。事实上,LC15反应的记录表明,LC15 也被小物体激活,尽管不如bars 激活那么强烈40,41。

LC10e 可作为结点探测器

LC10 神经元从小叶投射到大脑中央的前视神经结节12 (图 6d)。LC10 被分为四种类型 (LC10a 至 LC10d),小叶内具有不同的分层特征13。

我鉴定出一种新的 LC10e 类型,并根据其不同的连接模式将其进一步细分为背侧和腹侧变体 (LC10ev 和 LC10ed) (扩展数据图 8)。这两种变体都接收来自 TmY9 类型的输入,但这些输入对于 LC10ev 来说更强 (图 6d 和扩展数据图 8),因此我将重点介绍它。

从六边形类型开始的双突触通路被绘制出来,顶部中间体是 TmY9q 和 TmY9q (图 6e 和扩展数据图 4d,5d 和 7)。对地图进行了对齐和平均 (图 6e)。平均 Tm1–TmY9q–LC10ev 地图位于平均 Tm1–TmY9q –LC10ev地图的左侧 (比较图 6e 中心的绿色和蓝色椭圆)。椭圆中心之间的位移矢量 (图 6f,插图)在几乎所有 LC10ev 细胞中都在q方向的 90° 以内。这表明由 TmY9q 和 TmY9q 介导的受体场成分之间存在系统的空间关系。这种关系中的噪声在单个细胞的图中很明显 (图 6f 和补充数据 5),但许多单个细胞与系统关系一致。

尽管 LC10ev 接收来自 TmY9q 和 TmY9q 的输入,但尚不清楚这两条通路如何相互作用。一种可能性是,LC10ev与 LC15 一样,检测到两条通路中活动的分离,并对q或q方向的刺激作出反应。另一种可能性是,LC10ev 检测到两条通路中活动的结合 (逻辑与)。在后一种情况下,由于图 6e,f 中明显的系统空间关系,LC10ev 可能是角落或 T 形接头的检测器。这只是一种推测,因为除了 TmY9 之外,LC10ev 还有其他强输入 (图 6e 和补充数据 4),目前尚不清楚它们如何塑造 LC10ev 的特征选择性。

运动、物体和色彩视觉

T4 和 T5 细胞介导的 TmY pERF (图 5a–c、扩展数据图 4 和 5 以及补充数据 3)覆盖 pCRF 末端区域,并起促进作用。T4 和 T5 神经元由运动激活,并且也以偏爱定向刺激而闻名 43。因此,来自运动系统的输入可能会增强 TmY 细胞的方向选择性,并且还会导致 TmY 对移动刺激的反应比对闪光刺激的反应更强。Dm3 输入和输出不包含已知编码运动方向的细胞类型 (扩展数据图 1)。

TmY4 受到多个小叶片中间神经元的抑制,包括全场细胞 LPI14 和 LPI15 (扩展数据图 4a 和 5a),它们被认为是抑制性的 (方法),并分别从 T4a 和 T5a 以及从 T4b 和 T5b 接收强输入。这表明 TmY4 可能受到水平背景运动的抑制。TmY9q (以及程度较小的 TmY9q)从LPI07 接收输入 (扩展数据图 4c 和 5c),这表明如果 LPI07 是抑制性的,TmY9q (和TmY9q)可能会受到垂直背景运动的抑制,因为 LPI07 从 T4c 和 T5c 以及从 T4d 和 T5d 接收输入。

TmY 输出包括与运动相关的类型。TmY4 突触到LPi07 细胞 (扩展数据图 4 和 5),后者突触到 T4c 和 T5c,以及 T4d 和 T5d。TmY9q 和 TmY9q突触到多种类型 (Y1,Y11,Y12 等),这些类型与 T4 和 T5 细胞相互耦合4,44。

分析

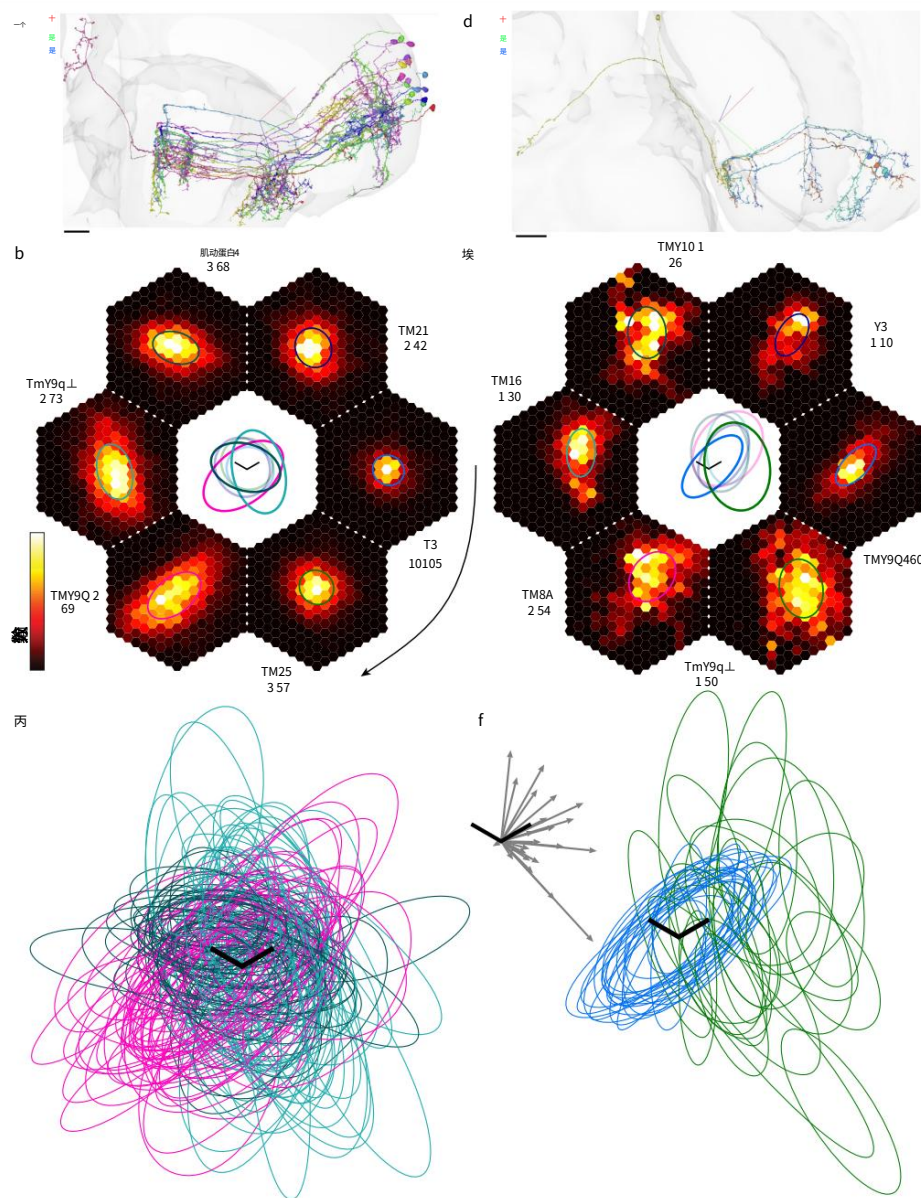


图 6 | 通过映射双突触通路预测 LC15 和 LC10e 的特征选择性。a, LC15 神经元 (粉色) 从小叶 (中间) 投射到 PVLP (左上), 以及强 (>4 个突触) 突触前 TmY4、TmY9q 和 TmY9q 伙伴, 远端髓质中有树突 (右)。b, 从六边形类型到 LC15 的双突触通路热图, 在 Mi1- 上对齐后取平均值

T3-LC15 图。中间类型 (图旁的文本) 按解剖强度顺时针排列 (弯曲箭头) (扩展数据图 7, 蓝线)。图显示了最强源六边形类型的图: 前两个为 Mi1, 其余为 Tm1。数字表示以 0.01% 为单位的突触输入分数: 热图最大值 (白色) 和六边形上的空间总和。椭圆近似值叠加在每个平均图上, 并再次显示在中心, 放大 1.5 倍以提高可见性。不透明度较大的椭圆表示中间体 TmY4、TmY9q 和 TmY9q。c, 所有 54 个单个 LC15 细胞的 Tm1-TmY-LC15 图的椭圆近似值, 由 TmY4 (深绿色)、TmY9q (洋红色) 介导。

由于 Dm3 pERF 由 T2a 介导 (图 4a-c), 而 TmY pERF 由 T2a 和 Y3 介导 (图 5a-c), 因此 Dm3-TmY 回路也可能受物体检测回路调节。尚未报告 T2a 和 Y3 视觉反应的记录, 但它们的连接性 (扩展数据图 9) 可用于推测功能。

T2a 的连接性与 T3 (参考文献 4) 相似, 后者由小物体激活⁴², 因此 T2a 也可能是小物体检测器⁴。已知 T3 是 ON-OFF⁴²。同样, T2a 和 Y3 也被预测为 ON-OFF, 因为

和 TmY9q (青色)。d, LC10ev 神经元 (绿色) 从腹侧小叶 (中间) 投射到前视神经节 (最左边), 以及强 (>3 个突触) 突触前 TmY9q 和 TmY9q 伙伴。e, 与 b 相同, 但对于 LC10ev, 排除了抑制中间体, 在 Tm1-TmY9q- 上对齐后取平均值

LC10ev 地图。地图显示了最强源六边形类型: Tm1、Tm1、Mi9、Mi4、Mi4 和 Mi1。透明度更高的中央椭圆表示中间体 TmY9q 和 TmY9q。f, Tm1-TmY- 的椭圆近似值

所有 23 个 LC10ev 细胞的 LC10ev 映射, 由 TmY9q (蓝色) 和 TmY9q (绿色) 介导。插图: 从 Tm1-TmY9q-LC10ev 到 Tm1-TmY9q-LC10ev 映射中心的位移矢量几乎都在 q 方向的 90° 范围内。

a, d 中的十字线代表侧向 (红色)、腹向 (绿色) 和后向 (蓝色)。比例尺为 15 μm (a)、20 μm (d) 或沿 p 和 q 轴的一个晶格常数 (b, c, e, f)。有关 a, d 中神经元的交互式可视化, 请参阅补充数据 1。

它们从 ON 细胞 Mi1 以及 Tm1 接收输入 (扩展数据图 9a, c)。

除了图 4 和图 5 中预测的 ERF 外, 还有其他强通路通往 Dm3 和 TmY 类型, 这些通路始于除 Tm1 以外的六边形类型 (扩展数据图 7, 红线和蓝线), 并通过中间类型, 如 TmY10 和 TmY11 (扩展数据图 10 和补充数据 3 和 4); 而通往 LC10e 的双突触通路也由 Tm8a、TmY10 和 Tm16 介导

如 TmY9（图 6e）。这些额外的中间类型的记录尚未被报道,但一篇配套论文使用连通性来推测它们与彩色视觉有关4。

预测及其局限性

通过解释神经元接线图,我预测了果蝇神经元的视觉反应,而此前神经生理学家从未记录过这些反应。无论这些预测是否正确,测试这些预测似乎都必定会提供有益的信息。

通过映射来自Tm1细胞的单突触通路,预测了Dm3和TmY细胞的CRF,发现它们具有方向性（图1b-d）和2b-d）。据此预测Dm3和TmY细胞具有方向选择性。

pERF 是通过映射来自 Tm1 细胞的双突触通路（图 4 和 5)来预测的,这些通路涉及 Dm3–TmY回路中的连接（图 3 和扩展数据图 6）。预测由其他 Dm3 类型介导的 Dm3 pERF 会在 pCRF 侧区中起抑制作用,并调整到非首选方向。预测由 T2a 介导的 Dm3 pERF 会在 pCRF 末端区中起促进作用,并且不会调整到调节刺激的方向或对比度（图 4a-c）。

预测由 TmY 介导的 TmY pERF 将在pCRF 末端区域和近侧区域起促进作用,并调节 pCRF 方向的刺激（图 5a-c）。预测由 Dm3 介导的 TmY pERF将在 pCRF 侧区起抑制作用,并调节与 pCRF 方向正交的刺激（图 5a-c）。

预测由相同 TmY 类型和正交 Dm3 类型介导的三突触通路引起的 TmY pERF会在 pCRF 侧区对 pCRF 方向的刺激具有抑制作用（补充数据 4）。

尽管我的预测非常具体和明确,但它们也有局限性。首先,我依赖于一个基本假设,即 CRF 来自单突触连接,而 ERF来自不与单突触连接平行的多突触通路。对于抑制通路（例如 Tm1–Dm3v–TmY4），人们可以确信这一假设,该通路本身不应激活 TmY4 细胞。然而,即使不刺激直接的 Tm1–TmY4 通路,刺激Tm1–TmY4–TmY4 等兴奋通路也可能激活最终的 TmY4 细胞。

总的来说,我的基本假设对于抑制性多突触通路更确定,而对于兴奋性多突触通路则不太确定。如果实验表明 CRF 的大小和形状与图 1 和图 2 的预测相符,那么基本假设就会得到支持,并且可以进行进一步的实验来寻找预测的促进和抑制 ERF 成分。

另一方面,如果 CRF 比预期的要长,那就意味着兴奋性多突触通路（这里预测对 ERF 有贡献）反而会延长 CRF。CRF末端区域促进 ERF 的预测将变得无效,因为末端区域将被延长的 CRF 吞没。

那么 ERF 将仅由抑制性多突触通路决定,并且仅具有抑制作用。

上述不确定性与ERF 定义中固有的一些模糊性有关 5。据说,仅通过刺激 ERF（没有 CRF 刺激）就不可能引起神经反应。如果修改定义,用困难代替不可能,那么 ERF 和 CRF 之间的区别就不再是黑白分明的了。

第二个限制是,由于存在许多可对ERF 产生影响的多突触通路,因此预测可能具有挑战性（图 4 和 5）。当相关通路既具有兴奋性又具有抑制性时,很难预测CRF 之外的刺激对调节的整体信号（促进还是抑制）。

因此,我将我的 ERF 预测重点放在兴奋或抑制可能占主导地位的位置。

但是,还有其他 ERF 通路未在上文中考虑。例如,一篇配套论文 37预测了许多与 Dm3–TmY 回路突触前相关的标准化机制:Tm1响应在空间上由五种 Pm 中间神经元类型标准化,这些类型汇集在多个长度尺度上（扩展数据图 2）,L2（Tm1 的主要输入）由三种 Dm 中间神经元类型标准化,L2–Tm1 连接由两种 Dm 中间神经元类型标准化。

所有这些机制都有望产生与刺激方向不协调的抑制性 ERF 成分,并可能掩盖预测的促进性 ERF 成分。

第三个限制涉及同一类型细胞之间的差异,图 1h、2j、4d、5d、6c、f 中的椭圆对此进行了总结,并在补充资料 3–5 中进行了详细说明。系统性差异是眼睛边缘附近几何关系的扭曲。

即使在远离边界的眼睛内部,也存在明显的随机变化。pERF 往往看起来更具可变性（图 4d 5d 和补充数据 3 和 4）比 pCRF（图 1 和 2）更高,这可能部分归因于非六边形类型对视野覆盖的随机性。

最后,我对 LC10e 的猜想假设激活阈值较高,这表明 LC10e 应该检测到TmY9q 和 TmY9q激活的结合,由排列在一个角落或 T 型连接处的两个定向刺激触发（图 6e、f 和补充数据 4）。

或者,如果 LC10e 的激活阈值较低,它可能会检测到其输入的分离。LC15 与所有三种 TmY 类型无差别连接,并且观察到其对刺激方向的不变性40,41表明 LC15 的激活阈值较低。

另外一个微妙之处（这里没有进一步讨论）是,由于抑制输入的存在,阈值实际上会动态变化。

原则上,上述一些限制可以通过构建神经活动网络模型来克服。然而,这可能不会提高目前的预测能力,因为目前许多模型参数尚不清楚。突触计数只是生理连接强度的粗略估计14,抑制性突触和兴奋性突触之间的单位电导率可能存在显著差异45。

其他不确定性,例如抑制是否应建模为减法或除法46,超出了参数的范围。因此,进行减少模型不确定性的实验至关重要。如果视觉生理学家测量方向和位置调谐曲线,这将限制交叉方向抑制相对于直接 Tm1 激发的强度,以及 ERF 通路的相对强度。

生物物理实验将阐明整个神经元树突状体中电压的变化程度47–49,这一点很重要,因为 pCRF 和 pERF 通路可能终止于树突状体上不同位置的突触。

讨论

卷积网络是人工智能中形成视觉的一种流行方法。视叶细胞类型可以解释为卷积网络中的特征图50,平均Tm1–Dm3（图1b-d)和Tm1–TmY（图 2d-f)连接图可以解释为卷积核。

LC10e 和 LC15 结合了来自 TmY 细胞的输入,可以视为通过结合来自更简单特征检测器的输入而构建的复杂特征检测器。这符合卷积网络的原始分层概念39,该概念受到哺乳动物初级视觉皮层 (V1) 的假设接线图的启发31。

Dm3–TmY 回路的布线类似于最初为 V1 提出的连接基序（参考文献 8,34,35）,并且这里预测的苍蝇神经元的一些视觉反应在 V1 中已有先例。特别是,预测 TmY 细胞的 ERF 存在“共线促进”,这意味着末端区域中的首选方向刺激可以促进对 CRF 中首选方向刺激的反应。

此前有报道称 V1神经元存在共线促进作用10,11,36,

分析

但大多数报告强调抑制作用6.如果 ERF 是由不同的并行多突触通路产生的,那么相互矛盾的
报告可能会得到调和6.不同的视觉刺激可能会强调兴奋性或抑制性通路,从而导致不同的实验结果。

类似地,TmY 细胞的 ERF 被预测为由许多重叠的兴奋和抑制通路所形成 (图 4 和 5 以及补充数据 4) ,但复杂性受到连接组的限制。我们可以推断细胞类型和连接 (如本研究中所示) ,借助遗传工具观察和操纵它们,并使用它们构建神经网络模型。这一新机会有可能克服传统方法的局限性,这些方法用于解开皮质中重叠的 ERF 机制的影响,例如操纵刺激对比度、方向和时间6,51。

在几种双翅目昆虫中已经描述了可能与 Dm3 同源的“线状无长突”细胞 1。如果事实证明蜜蜂中存在 Dm3 和 TmY 同源物,那么值得将其与蜜蜂行为研究进行比较,但需要注意的是,蜜蜂的视觉敏锐度比果蝇更高,而小眼间距更小52。

行为实验被解释为推断蜜蜂视觉系统中存在 “至少三个方向敏感通道” 53,54.后来预测方向选择性神经元最多跨越三个小眼55.这与预测的Dm3 和 TmY 细胞的 CRF 大致匹配。值得注意的是,Dm3 受体场以前不会被猜测如此短,因为 Dm3树突相当长 (图 1b-d) 。预测的 CRF 需要真正的连接性,而不仅仅是形态。

预测的 TmY 细胞共线促进作用可能会对昆虫的视觉行为产生影响。蜜蜂曾被认为能够感知虚幻轮廓 56,57.后来,实验被宣布为不可重复 58,59,尽管这种迟来的放弃似乎没有引起人们的注意 60.如果神经生理学实验能够检测到此处预测的共线促进作用,这个话题似乎值得重新讨论。如果以神经生理学和行为为指导,虚幻轮廓刺激的设计似乎更有可能成功。

蜜蜂的行为实验被用来论证视觉刺激的方向是独立于其运动方向计算的53.随后在果蝇的方向选择性 T4 和 T5 细胞中发现了方向选择性43.本研究预测了一个方向选择性 Dm3-TmY 电路,它确实不同于运动电路,尽管它们之间存在如上所述的相互作用。

Dm3-TmY 回路立即引出了许多有关神经发育的问题。未知数包括引导 Dm3 树突向三个方向生长的分子的身份,以及 Dm3树突如何 “决定”生长多远,即使在髓质边界急剧转向后也是如此 (图 1) 。确定 Dm3 和 TmY 细胞连接偏好的分子 (图 3a)显然令人感兴趣。

还应该存在一些分子,它们对树突特定位置突触的形成有偏好,这对于连接的空间组织很重要 (扩展数据图 6) ,有待在未来的工作中进行分析。

在线内容

任何方法、其他参考文献、Nature Portfolio 报告摘要、源数据、扩展数据、补充信息、致谢、同行评审信息、作者贡献和利益竞争的详细信息;以及数据和代码可用性声明均可在<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07953-5> 上找到。

3. Nern, A.,Pfeiffer, BD 和 Rubin, GM 优化的多色随机标记工具揭示了苍蝇视觉系统中多种刻板细胞的排列。美国国家科学院院刊。Sci. USA 112, E2967–E2976 (2015)。

4. Matsliah, A. 等人。视觉系统的神经元件列表和接线图。《自然》<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07981-1> (2024) 。

5. Allman, J., Miezin, F. & McGuinness, E. 刺激特定反应超出了经典受体场:视觉神经元局部-整体比较的神经生理机制。《神经科学年鉴》 8,407-430 (1985 年) 。

6. Angelucci, A. 等人,视觉皮层环调节的电路和机制。安努,神经科学教师。 40, 425–451 (2017)。

7. Sompolinsky, H. & Shapley, R. 方向选择性机制的新观点。Curr . Opin. Neurobiol. 7, 514–522 (1997)。

8. Mitchison, G. & Crick, F. 纹状皮层内的长轴突:它们的分布,方向和连接模式。美国国家科学院院刊79,3661-3665 (1982) 。

9. Chance, FS,Nelson, SB 和 Abbott, LF,《复杂细胞作为皮质扩增的简单细胞》。《自然神经科学》 2,277–282 (1999 年) 。

10. Kapadia, MK,Ito, M.,Gilbert, CD 和 Westheimer, G. 通过改变局部环境来提高视觉敏感度:对人类观察者和警觉猴子 V1 的平行研究。神经元15, 843–856 (1995)。

11. Polat, U.,Mizobe, K.,Pettet, MW,Kasamatsu, T. 和 Norcia, AM 共线刺激根据细胞的对比度阈值调节视觉反应。《自然》 391,580–584 (1998 年) 。

12. Otsuna, H. 和 Ito, K.果蝇视觉投射神经元的系统分析。J. Lobula 特异性通路。J. Comp. Neurol. 497, 928–958 (2006)。

13. Wu, M. 等人。果蝇小叶中的视觉投射神经元将特征检测与不同的行为程序联系起来。eLife 5, e21022 (2016)。

14. Lappalainen, JK 等人。连接组约束网络预测果蝇视觉系统的神经活动。《自然》杂志<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07939-3> (2024)。

15. Zheng, Z. et al. 成年果蝇大脑的完整电子显微镜体积黑腹果蝇。Cell 174, 730–743 (2018)。

16. Dorkenwald, S. 等人。成人大脑的神经元接线图。《自然》 <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07558-y> (2024)。

17. Schlegel, P. 等人。果蝇的全脑注释和多连接细胞分型。《自然》 <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07686-5> (2024)。

18. Özel, MN 等,视觉系统发育中的神经元多样性和收敛图集。《自然》 589,88–95 (2021)。

19. Kurmangaliyev, YZ,Yoo, J.,Valdes-Aleman, J.,Sanfilippo, P. 和 Zipursky, SL 果蝇视觉系统中电路组装的转录程序。神经元108,1045–1057 (2020年) 。

20. Denk, W.,Briggman, KL 和 Helmstaedter, M. 结构神经生物学:缺失的环节对神经计算的机械理解。Nat. Rev. Neurosci. 13, 351–358 (2012)。

21. Seung,HS, 《连接组:大脑的连接如何造就了我们》(HMH,2012 年) 。

22. Takemura, S.-Y. 等人. ON 神经基质的综合连接组果蝇的运动检测。eLife 6, e24394 (2017)。

23. Hulse, BK 等人。果蝇中整合体的连接组揭示了适合灵活导航和上下文相关动作选择的网络基序。eLife 10, e66039 (2021 年) 。

24. Eschbach, C. 等人。昆虫大脑中自适应调节学习的循环架构。《自然神经科学》 23, 544–555 (2020)。

25. Maisak, MS 等人,果蝇基本运动探测器的方向调谐图。自然500,212-216 (2013)。

26. Seelig, JD & Jayaraman, V. 地标方向和角度路径的神经动力学《Nature》 521, 186–191 (2015 年) 。

27. Cognigni, P.,Felsenberg, J. 和 Waddell, S. 做正确的事:果蝇记忆形成、表达和更新的神经网络机制。Curr . Opin. Neurobiol. 49, 51–58 (2018)。

28. Hartline, HK 脊椎动物眼睛单个视神经纤维对照明的反应视网膜。Am . J. Physiol. 121, 400–415 (1938 年) 。

29. Zhao, A. 等人。眼睛结构决定果蝇运动视觉的神经元功能。预印本在bioRxiv <https://doi.org/10.1101/2022.12.14.520178> (2022) 上。

30. Arenz, A.,Drews, MS,Richter, FG,Ammer, G. 和 Borst, A. 时间调谐果蝇运动探测器由其输入元件的动态决定。Curr 。Bio. 27, 929–944 (2017)。

31. Hubel, DH & Wiesel, TN 猫视觉皮层的感受野、双眼相互作用和功能结构。J. Physiol. 160, 106–154 (1962)。

32. Serbe, E.,Meier, M.,Leonhardt, A. 和 Borst, A. 综合表征果蝇OFF 运动检测器的主要突触前元素。神经元89, 829–841 (2016 年) 。

33.Drews,MS 等人。动态信号压缩可实现苍蝇的稳健运动视觉。Curr . Biol. 30, 209–221(2020)。

34. Benevento, LA, Creutzfeldt, OD & Kuhnt, U. 皮质内抑制在视觉皮层。Nat. New Biol. 238, 124–126 (1972 年) 。

35. Morrone, MC, Burr, DC & Maffei, L. 交叉取向的功能含义皮质视觉细胞的抑制。J.神经生理学证据。Proc . R. Soc. B 216, 335–354 (1982)。

36. Kapadia, MK,Westheimer, G. 和 Gilbert, CD,《初级视觉皮层和视觉感知中情境相互作用的空间分布》。《神经生理学杂志》 84,2048–2062 (2000 年) 。

37. Seung,HS 视觉系统中的中间神经元多样性和规范化特异性。bioRxiv预印本<https://doi.org/10.1101/2024.04.03.587837> (2024)。

38. Marr, D. 视觉信息的早期处理。Philos . Trans. R. Soc. B 275, 483–519 (1976年)。

39. Fukushima, K. Neocognitron:一种不受位置变化影响的模式识别机制的自组织神经网络模型。生物控制论。36, 193-202 (1980 年) 。

40. Städele, C.,Kele , MF,Mongeau, J.-M. 和 Frye, MA,《果蝇的非典型受体场特性和特征检测神经元的神经调节》。《Curr. Biol.》 30,2508–2519 (2020)。

41. Klapoetke,NC 等。果蝇大脑中的功能有序特征图。神经元110,1700–1711 (2022) 。

1. Strausfeld, NJ 双翅目的视叶。Philos . Trans. R. Soc. B 258, 135–223 (1970)。

2. Fischbach, K.-F. & Dittrich, APM果蝇的视叶。J. 野生型结构的高尔基体分析。细胞组织研究。258,441–475 (1989 年) 。

42. Kele , MF,Hardcastle, BJ,Städele, C.,Xiao, Q. 和 Frye, MA 抑制相互作用和果蝇物体运动检测器的柱状输入. Cell Rep. 30, 2115–2124 (2020)。

43. Fisher, YE, Silles, M. 和 Clandinin, TR 方向选择性增强了果蝇的运动检测能力。《神经元》 88, 390–402 (2015 年)。

44. Shinomiya, K., Nern, A., Meinertzhagen, IA, Plaza, SM 和 Reiser, MB Neuronal 果蝇中整合视觉运动信息的电路. Curr . Biol. 32, 3529–3544 (2022)。

45. Ammer, G. 等人。果蝇的多级视觉运动对抗。《自然神经科学》 26, 1894–1905 (2023)。

46. Groschner, LN, Malis, JG, Zuidinga, B. 和 Borst, A. 单个神经元增殖的生物物理学解释。《自然》 603, 119–123 (2022 年)。

47. Gouwens, NW 和 Wilson, RI 果蝇中枢神经元中的信号传播。J. Neurosci. 29, 6239–6249 (2009)。

48. Yang, HH 等。电压和钙信号的亚细胞成像揭示了神经体内处理。Cell 166, 245–257 (2016)。

49. Meier, M. 和 Borst, A. 果蝇无长突细胞的极端区域化. Curr . Biol. 29, 1545–1550 (2019)。

50. LeCun, Y. 等人。反向传播应用于手写邮政编码识别. 神经计算. 1, 541–551 (1989)。

51. Henry, CA, Jazayeri, M., Shapley, RM 和 Hawken, MJ 独特的时空机制是猕猴 V1 微电路中超经典受体场调节的基。eLife 9, e54264 (2020)。

52. Land, MF, 《昆虫的视觉敏锐度》。《昆虫学年鉴》 42, 147–177 (1997 年)。

53. Srinivasan, MV, Zhang, SW & Rolfe, B. 昆虫的图案视觉是否由“皮质”处理介导? 《自然》 362, 539–540 (1993 年)。

54. Srinivasan, MV, Zhang, SW & Witney, K. 通过视觉辨别图案方向蜜蜂:表现和对“皮质”处理的影响. Philos . Trans. R. Soc. B 343, 199–210 (1994)。

55. Horridge, A. 蜜蜂 (Apis mellifera) 的视觉系统:最大长度方向探测器. J . Insect Physiol. 49, 621–628 (2003)。

56. Van Hateren, JH, Srinivasan, MV 和 Wait, PB, 《蜜蜂的模式识别:方向辨别》。《J. Comp. Physiol. A 》 167, 649–654 (1990 年)。


57. Horridge, A., Zhang, S.-W. 和 O Carroll, D. 昆虫对虚幻轮廓的感知. Philos . Trans. R. Soc. B 337, 59–64 (1992)。

58. Horridge, A. 蜜蜂看到了什么?我们又如何知道? 对科学的批判原因 (ANU, 2009)。

59. Horridge, GA, 《蜜蜂 (Apis mellifera) 对单条条纹的辨别》. 视觉研究。43, 1257–1271 (2003)。

60. Gatto, E., Loukola, OJ, Petrazzini, MEM, Agrillo, C. 和 Cutini, S. 错觉透视人类和蜜蜂. Vision 6, 28 (2022)。

出版商注释Springer Nature 对于已出版地图和机构隶属关系中的管辖权主张保持中立。



开放获取本文根据 Creative Commons Attribution 4.0 International License 许可,允许以任何媒体或格式使用、共享、改编、分发和复制,只要您给予适当的

注明原作者和来源,提供知识共享许可的链接,并说明是否进行了更改.本文中的图像或其他第三方材料包含在文章的知识共享许可中,除非在材料的致谢中另有说明.如果材料未包含在文章的知识共享许可中,并且您的预期用途不被法律法规允许或超出允许用途,则需要直接从版权持有人处获得许可.要查看此许可证的副本,请访问<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>。

分析

方法

雌性成年苍蝇大脑的重建接线图

这项工作基于对成年雌性果蝇大脑的校对重建 v78315–17。所有细胞和连接均来自右侧视叶。视叶固有神经元的细胞类型注释4

，以及跨越视叶和中枢大脑17的“边界”神经元在配套论文中提供。

如其他地方所详述的16,61,神经元是通过人工校对使用卷积网络自动分割的 3D 电子显微照片来重建的。使用卷积网络62,突触被自动检测并分配给伙伴。从与之前通过其他方法重建的苍蝇中脑63和视叶64中的神经元接线图的比较4,16 来看,重建精度是最先进的。我还没有尝试解开细胞间变异的生物学和技术来源,尽管可以使用统计模型17,64 尝试。

常见的做法是,只保留至少具有一定阈值数量的突触的连接,从而对接线图进行阈值处理16,17,63。进行这种阈值处理是为了减少假阳性连接,这在大脑中很重要,因为大脑中部大多数细胞类型仅由单个神经元及其在另一半球的镜像对应物组成。

在视叶中,大多数类型都包含许多细胞,因此可以使用大样本来判断细胞类型是否真正连接。因此,本研究不对连接进行阈值设置。

Dm3,TmY4 和 TmY9 细胞类型的注释已随配套论文4发布,但只是顺便提及。本研究首次详细描述了这些细胞类型的连接组学特性。

Dm3 类型

斯特劳斯菲尔德在对卡利福拉和埃里斯塔利斯的戈尔基研究中描述了线状无长突细胞，以及Musca65。Strausfeld还提到

未发表的对Locusta和Apis1中的线状无长突细胞的观察结果。在对果蝇的 Golgi 研究中,线状无长突细胞被命名为 Dm32。

光学显微镜采用多色随机标记3,将 Dm3 分为两种类型,树突方向正交,这超越了高尔基体研究。随后,Dm3p 和 Dm3q 被发现在成年期 (P50 或更早)18 之前具有不同的转录组。(参考文献 18 使用了替代名称 Dm3a 和 Dm3b。)免疫染色显示Dm3q 表达双歧杆菌,而 Dm3p 不表达。参考文献 18 还分析了七个髓质柱64 的重建,结果表明Dm3p 和 Dm3q 更喜欢相互突触,这预示了本研究,并推测 Dm3 细胞位于运动通路中。

目前尚不清楚为什么这种方法没有发现第三种 Dm3v 类型,这在图 1d 中很明显。据推测是因为本研究使用的 GAL4 系中只有 Dm3p 和 Dm3q 被标记。没有办法看到Dm3v,因为它是看不见的。后续的转录组研究18,19

没有发现第三种 Dm3 类型。七柱髓质电子显微镜数据集 18,64也没有发现它,可能是因为这个体积太小,无法容纳超过Dm3 细胞碎片。然而,在我们完整且无偏差的视叶神经元样本中,三种 Dm3 类型 (图 1b-d)是显而易见的。

它们可以通过其神经突的方向 (图 1b-d)或它们的连接模式 (图 3a 和扩展数据图 1)来区分。在连接模式方面,Dm3p 与 Dm3q 之间的相似性高于与 Dm3v 之间的相似性,而 TmY9q 与 TmY9q 之间的相似性高于与 TmY44 之间的相似性。连接性的相似性是否与转录组相似性相对应还有待观察。

TmY类型

TmY4 和 TmY9 之前已有描述2。两种 TmY9 类型可通过其神经突的切线方向 (图 2b,c)或其连通性 (图 3a 和扩展数据图 4 和 5)来区分。它们的

分层概况略有不同 (图 1a)。TmY9q在小叶板的第 1 层和第 2 层分层,而 TmY9q 仅在第 1 层分层。TmY9q 在小叶的第 5 层和第 6 层更常为双层,而 TmY9q 更常为单层 (图 1a 和 2b,c)。

LC10e 和 LC15

LC10 细胞从叶突伸至视神经结节前部12,与视觉引导的求偶行为66有关。之前使用 GAL4 转基因系根据叶内 LC10 的分层情况鉴定出四种LC10 类型13。使用配套论文4中描述的连接组学方法,我鉴定出第五种类型 (LC10e),其分层于叶的第 6 层。LC10e根据连接情况进一步细分为两组。这两组分别覆盖背部和腹部延髓。

我推测 LC10e 检测到角落或 T 形连接点是腹侧变体所特有的,腹侧变体从 TmY9q 和 TmY9q 接收强烈输入。假设苍蝇位于地标或待观察物体上方,那么腹侧视野预计对形式视觉更为重要。

神经递质和受体身份

FlyWire 提供基于电子显微照片的神经递质身份预测67。预测 Dm3 为谷氨酸能,而预测 TmY4 和 TmY9 为胆碱能。通过检查神经递质合成和运输基因的表达可以得出相同的推论19,68。

神经递质对突触后神经元具有兴奋性还是抑制性作用取决于突触后受体的特性。当突触后受体为烟碱型时,乙酰胆碱具有兴奋性,这在果蝇大脑中通常是这种情况69。当突触后受体为 GluClα70 时,谷氨酸在果蝇中具有抑制性。

根据转录组数据19,68, Dm3 表达 GluClα。未发表的数据表明 TmY4 和 TmY9 也表达 GluClα (Y. Kurnangaliyev,个人通信)。应该注意的是,迄今为止,Dm3p 和 Dm3q 的转录组信息存在,但 Dm3v 不存在。

根据以上证据,本研究中Dm3被推测为抑制性的,而TmY4和TmY9被推测为兴奋性的。

Tm1、Tm2、Tm9 和 L3 被预测为胆碱能,而 Mi4 是 FlyWire67和转录组学68 预测其为 GABAergic。根据电子显微照片16,67,预测T2a、Y3、TmY10、TmY11、Tm7、Tm8a、Tm16、Tm20、Tm25 和 Tm27具有胆碱能作用,并推测具有兴奋性。

根据电子显微照片预测 LPi14 和 LPi15 为 GABA 能细胞16,67,推测其为抑制性细胞。根据电子显微照片预测LPi07 细胞为 GABA 能细胞、谷氨酸能细胞或不确定,推测其为抑制性细胞。

Hexel 细胞类型

昆虫复眼的小眼通常排列成六边形格子,因此术语六边形将指代复眼捕获的图像元素。这是为了将几何图形与计算机视觉中惯用的方像素格子定义的图像区分开来。

果蝇的复眼遵循神经叠加原理,其中每个六角形由位于相邻小眼但指向同一光轴的六个光感受器采样2,71。

这六个光感受器汇聚到一个单一的层状盒上,该层状盒投射到单一的髓质柱上。

每个盒或柱出现一次的细胞类型被称为模块化64,并且与六角形——对应。我将六角形细胞类型定义为模块化的细胞类型,并且具有神经生理学家观察到的大约一眼宽的受体区。Tm1、Tm2、Tm9、Mi1、Mi4 和 Mi9 是

之所以包括这些类型,是因为它们的受体场的半峰全宽范围为 6° 至 8°,大致相当于小眼之间的角间距30。根据观察到的受体场33,还包括 L1 至 L5。(事实证明,L3 是所研究的双突触通路的主要贡献者。)这个六边形类型列表是临时的,因为模块类型的受体场尚未详尽量化。

连通性图包括 v783 重建中的 745 个 Tm1、746 个 Tm2、716 个 Tm9、796 个 Mi1、749 个 Mi4、730 个 Mi9、785 个 L1、763 个 L2、709 个 L3、671 个 L4 和 774 个 L5 细胞,这些细胞通过下文所述的程序成功分配到六边形格子中的点。这些数字小于 v783 中校对的细胞总数(参考文献 4),但缺口通常小于 10%。

Tm3 和 Tm4 被排除在六边形类型列表之外,因为它们的受体野的半峰全宽为 12°(参考文献 30)。包括 Tm3 和 Tm4 会改变强双突触通路列表。例如,Tm4-Li02-LC10ev 将进入 LC10ev 列表。T4 和 T5 也不被视为六边形类型,因为它们的受体场太大。

Tm1 为瞬时OFF30,32,72, Tm2 为瞬时OFF30,32,72,73, Mi4 为持续 ON30,74, Tm9 为持续OFF30,32,72,且 L3 为持续 OFF33,75。这些都是 Dm3 输入(扩展数据图 1 和 3),与Dm3 细胞具有 OFF 受体场的预测一致。Mi1 是 ON 瞬态30,72,76。这些生理研究大多基于钙成像。电生理学 72 和电压成像 48也是可能的。

六方格子坐标
在配套论文4中,视叶的连接规则被简化为仅取决于细胞类型,而忽略了空间位置。为了精确表征包括空间依赖性的视叶连接性,本研究将六角形细胞类型分配给六角形晶格。

所有 Mi1 单元都半自动分配到六边形格点。L 单元的位置是通过使用应用于连接矩阵的匈牙利算法与 Mi1 单元——对应放置来分配的。其他六边形类型的位置也是通过同样使用匈牙利算法与 L 单元——对应放置来分配的。

补充资料 2提供了(p, q)坐标中六边形类型的最终位置。按照参考文献 29 中定义的惯例,六边形晶格的所有三个基本轴都指向上方(图 1f)。垂直轴指向背部,p 轴和q轴分别指向延髓的前背和后背方向。请注意,对于果蝇,晶格的六边形的顶部和底部是平的,左侧和右侧是尖的,p-q轴与背腹轴和前后轴的关系比图 1f 中所示的更复杂,因为延髓是弯曲的而不是平坦的。

图中描绘的是延髓柱的格子结构。可以为小眼构建类似的格子结构,由于视交叉的存在,该格子相对于延髓柱的格子是左右颠倒的。

因此,视网膜上的从后向前的运动就是延髓晶格上的从前向后的运动。换句话说,眼睛中的p轴和q轴相对于延髓是交换的。眼睛和延髓之间的另一个区别是,延髓中的p轴和q轴接近正交,延髓沿前后方向被挤压。眼睛中的p轴和q轴相距更接近 120°,其中小眼更接近正六边形晶格。

图中绘制的六边形晶格看起来非常均匀。这些图仅用于描绘细胞和柱的最近邻关系,并不准确表示距离。在参考文献 29 中构建了更几何准确的晶格表示,定量描述了本研究中使用的相同电子显微镜数据集的左视叶以及许多

果蝇的眼睛29。苍蝇和其他昆虫的视网膜上的视力也各不相同52,77。

“受体场”中心

Dm3 和 TmY 细胞的位置是根据Tm1 的单突触连接图计算得出的。LC15 和 LC10ev 细胞的位置是根据它们最强的双突触通路 Mi1-T3-LC15和 Tm1-TmY9q-LC10ev 计算得出的。在所有情况下,地图都与一个线性滤波器卷积,该滤波器在中心列中为 1.1,在其六个相邻列中为 1。结果的最大值被视为细胞的位置。这个中心通常靠近椭圆中心(地图的质心),但它们不一定相同。

椭圆近似“感受野”

假设一幅图像在笛卡尔坐标(x, y)处有六角形值hi,则对图像进行归一化可得到概率分布p = / hh (Σ)=1j。然后通过以下公式计算椭圆,其中i从六边形网格的1 点到N点。正常坐标:

$$\overline{xp} = \sum_{i=1}^N p_i x_i, \quad \overline{yp} = \sum_{i=1}^N p_i y_i$$

协方差矩阵为

$$\Sigma = \sum_{i=1}^N p_i \begin{pmatrix} x_i - \overline{x} & y_i - \overline{y} \\ y_i - \overline{y} & x_i - \overline{x} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_i - \overline{x} & y_i - \overline{y} \\ y_i - \overline{y} & x_i - \overline{x} \end{pmatrix}^T + \frac{5s^2}{12} \mathbf{I}$$

其中表示 2×2 单位矩阵, s表示六边形边长。六边形图像的长度和宽度定义为

2σmax和2σmin,其中σmax²和σmin²是协方差矩阵的较大和较小特征值。近似椭圆以图像质心为中心,沿协方差矩阵的主特征向量方向。

协方差矩阵C的第一项实际上将概率分布视为位于格点的狄拉克 delta 函数的加权组合。第二项是如果每个 delta 函数被相应六边形上的均匀分布替换时产生的校正。这种替换具有生物学意义,因为柱子从非零立体角接收视觉输入。

如果不进行校正,如果图像由集中在单个 delta 函数上的单个六角形元素组成,则长度和宽度将消失。经过校正后,具有单个非零六角形元素的图像的长度和宽度变为s 5/3 = a 5/3,其中a= 3 s是晶格常数。

当图像的长度和宽度较大时,校正变得相对较小。

上文已隐式地将2σ定义为 1D 高斯分布的宽度,其中σ²是方差。这是最大值的e ≈ 0.6 – 1/2处的全宽。或者,可以通过半最大值处的全宽来估计宽度, σ² 2 ln2 ≈ 2.4σ。对于任一估计,宽度都与σ成正比。我坚持使用更简单的估计2σ,它可以通过读者偏好的任何乘法因子轻松缩放。

“感受野”的一维投影

椭圆近似给出了接受域大小的参数估计。对于非参数估计,我还使用了六边形格子上定义的方向上的一维投影。每个六边形都被赋予坐标(p, q),原点位于用于对齐的锚点位置。

基本方向(v、p和q)指向最近的邻居,它们相距一个晶格常数。投影将六边形按相等的p + q、2p – q或2q – p 分组。通过与 [0.5, 1, 0.5] 进行卷积(步长为 2)来平滑投影,从而得到以单个晶格常数为单位测量的坐标。

分析

正交方向 (h、p和q)指向次近邻,距离为3个晶格常数。投影将相等的q - p、q或p的六边形分组。结果坐标以晶格常数 × 3 / 2 为单位。



细胞和细胞类型的输入分数

令Wab表示从细胞a到细胞b 的突触数量,令WAB表示从细胞类型A到细胞类型B的突触数量。对这些矩阵进行归一化,使每列之和为 1,

$$w_{AB} = \frac{W_{AB}}{\sum_B W_{AB}} \quad w_{AB} = \frac{W_{AB}}{\sum_{AB} W_{AB}}$$

矩阵Pab是来自神经元a的输入突触到神经元b的比例。同样,矩阵PAB是来自细胞类型A的输入突触到细胞类型B的比例。

矩阵Pab可以解释为由神经元上的“向后”随机游走定义的马尔可夫链。在每个时间步骤中,游走者均匀随机地选择当前神经元的输入突触,然后沿逆行方向穿过突触到达突触前节点。然后Pab表示从神经元b走到神经元a的概率。

类似地,矩阵PAB可以解释为由细胞类型上的“向后”随机游走定义的马尔可夫链。在每个时间步骤中,游走者均匀随机地选择当前细胞类型的输入突触,然后沿逆行方向穿过突触到达突触前细胞类型。然后PAB表示从细胞类型B步进到细胞类型A的概率。

扩展数据图 7 通过PABPBC 量化了双突触通路的解剖强度,即随机向后走 A-B-C 通路的概率。该分数用于选择通向 Dm3 (图 4)、TmY (图 5)和 LC (图 6)类型的顶级双突触通路。

中介类型

所分析的双突触通路 (图 4-6.扩展数据图 7和补充数据 3-5)始于六边形类型,经过中间类型,最终到达目标类型 (Dm3、TmY 或 LC)。中间类型被限制为非六边形类型。

对于 LC10ev (图 6 和补充数据 5),中间类型被限制为胆碱能 (兴奋性)。对于 LC15,这种限制是不必要的,因为顶级中间体都被预测为胆碱能 (兴奋性)。分析不需要为中间类型分配空间位置。每种中间类型的细胞数量可以在配套论文 4 中找到。

映射单突触连接

令ra表示六边形格子中单元格a的位置,令Wab表示从细胞a到细胞b的突触数量。那么从细胞类型A到细胞b 的单突触连接图为

$$f_{AB} = \frac{1}{|B|} \sum_{a \in B} \sum_{b \in B} w_{ab}$$

从细胞类型A到细胞类型B 的平均单突触连接图是

$$f_{AB} = \frac{1}{|B|} \sum_{a \in B} \sum_{b \in B} w_{ab}$$

标准化是针对 B 型细胞的数量|B|进行的,因为如果坐标系的原点位于B细胞,则连接图定义为B细胞从A细胞接收的突触的平均数量。

在补充数据 3-5 中,这些图使用Pab而不是Wab来定义,以便于与下面定义的双突触通路的概率图进行比较。

绘制双突触通路

从细胞类型A到细胞类型B再到细胞类型c的双突触通路图为

$$f_{ABC} = \sum_{a \in A} \sum_{b \in B} \sum_{c \in C} w_{ab} w_{bc}$$

从细胞类型A到细胞类型B再到细胞类型C的平均双突触通路图为

$$f_{ABC} = \frac{1}{|A||B||C|} \sum_{a \in A} \sum_{b \in B} \sum_{c \in C} w_{ab} w_{bc}$$

这两个图都是归一化概率分布,即对所有r、A和B求和得出 1。

三突触通路的地图以类似的方式定义。

报告摘要

有关研究设计的更多信息,请参阅与本文链接的《自然投资组合报告摘要》。

数据可用性

视叶的细胞类型注释取自 visual_neuron_types.csv.gz (2024 年 5 月 6 日),中脑的注释取自classification.csv.gz (2024 年 3 月 6 日)。神经递质注释取自neurons.csv.gz (2024 年 2 月 27 日)。

这些文件可以从 FlyWire Codex (<https://codex.flywire.ai>)。补充数据 2 中提供了六角形格点的六角形类型分配。

代码可用性

可以使用<https://github.com/hkseung/OpticLobe.jl>。

61. Dorkenwald, S. 等人。FlyWire:全脑连接组学在线社区。Nat. 方法19, 119–128 (2022)。

62. Buhmann, J. 等人。果蝇全脑突触伙伴的自动检测电子显微镜数据集。 Nat. Methods 18, 771–774 (2021)。

63. Scheffer, LK 等人。成年果蝇中脑的连接组和分析。eLife 9,e57443 (2020年)。

64. Takemura, S.-Y. 等人。果蝇视觉系统不同柱内的突触回路及其变化。美国国家科学院刊112, 13711–13716 (2015)。

65. Strausfeld, NJ, 《昆虫大脑图谱》 (Springer,1976 年)。

66. Ribeiro, IMA 等人,视觉投射神经元介导果蝇的定向求偶。 Cell 174, 607–621 (2018)。

67. Eckstein , N. 等人。根据果蝇突触部位电子显微镜图像对神经递质进行分类。Cell 187, 2574–2594 (2024)。

68. Davis , FP 等人。用于探索神经回路功能的遗传、基因组和计算资源。eLife 9,e50901 (2020 年)。

69. Rosenthal, JS & Yuan, Q. 构建和调节兴奋性胆碱能突触:烟碱乙酰胆碱受体在果蝇神经发育和生理学中的多方面功能。Front . Cell. Neurosci. 15, 720560 (2021)。

70. Liu, WW & Wilson, RI 谷氨酸是果蝇的一种抑制性神经递质嗅觉系统。美国国家科学院刊110, 10294–10299 (2013)。

71. Currier, TA, Pang, MM 和 Clandinin, TR,《果蝇的视觉处理,从光感受器到行为》。《遗传学》224, iyad064 (2023 年)。

72. Behnia, R.,Clark, DA,Carter, AG,Clandinin, TR 和 Desplan, C.果蝇运动检测的 ON 和 OFF 通路处理特性。《自然》 512,427–430 (2014 年)。

73. Meier, M. 等人,果蝇OFF 运动视觉通路的神经回路组成部分。 Curr. Biol. 24, 385–392 (2014)。

74. Strother, JA 等人。果蝇视觉运动通路中方向选择性的出现。神经元94, 168–182 (2017 年)。

75. Silies, M. 等,外围输入通道的模块化使用可调整运动检测电路。 神经元79,111–127 (2013)。

76. Strother, JA, Nern, A. 和 Reiser, MB 直接观察果蝇视觉系统中的 ON 和 OFF 通路。Curr . Biol. 24, 976–983 (2014)。

77. Rigosi, E., Wiederman, SD & O Carroll, DC 蜜蜂视网膜的视觉敏感度和特征检测的限制。Sci . Rep. 7, 45972 (2017)。

致谢我感谢 K. Kruk 对本次分析中用到的几乎所有细胞进行了分型4 ;E. Kind 分享了他对右视叶中 Mi1 位置的注释;R. Willie 说明了图 1a 中的神经纤维网层 ;A. Seung,N. Seung 和 S. M. Seung 帮助将 Mi1 细胞分配到六边形格子点;Y. Kurmangaliyev 和 M. Murthy 对手稿的评论;Y. Yin 对早期版本的修正 ;C. Gilbert 对共线促进的建议;T. Currier,T. Clandinin 和 A. Matsliah 的对话;以及 J. Maitin-Shepard 提供的 Google Neuroglancer。这项研究得到了美国国立卫生研究院的支持（奖项 U24NS120053,U19NS132720,RF1MH129268,U24NS126935,RF1MH123400,UM1NS132250 和 UM1NS132253）。

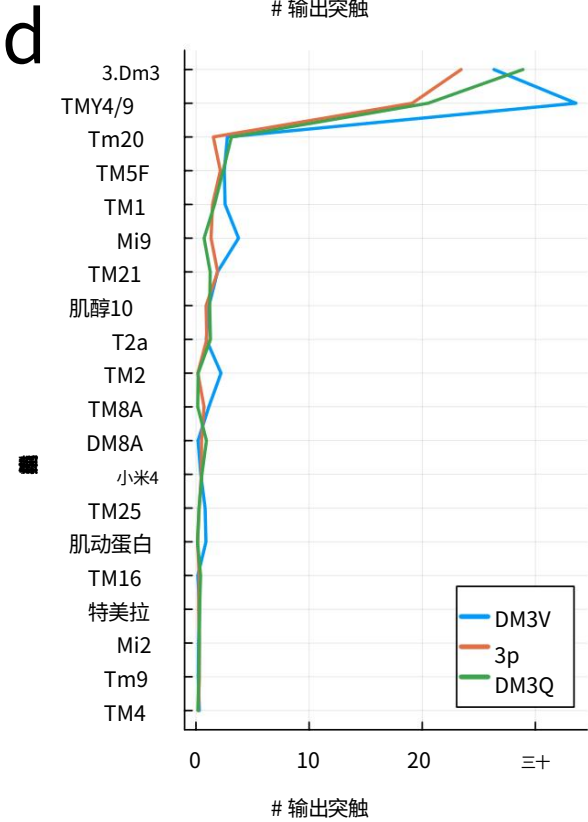
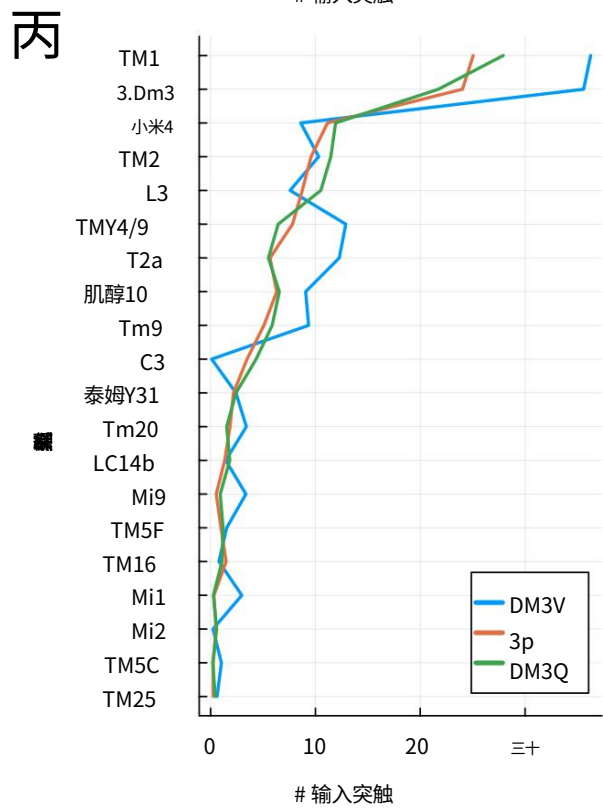
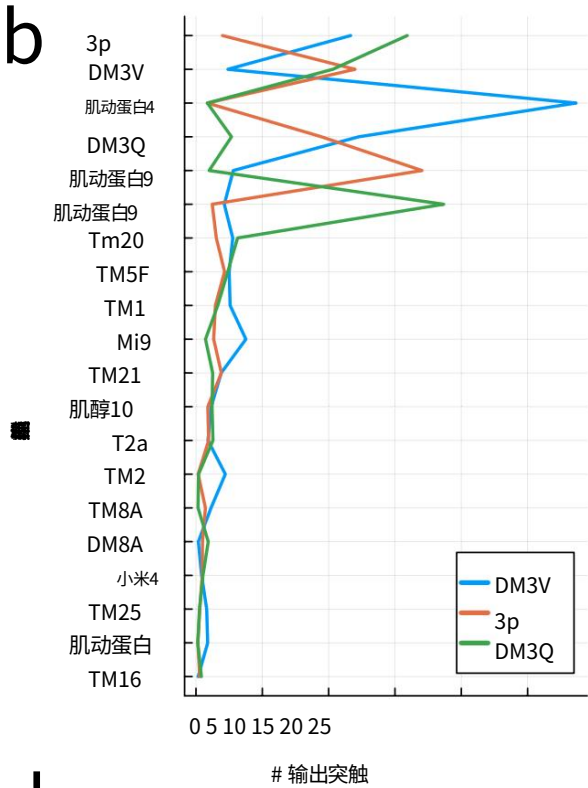
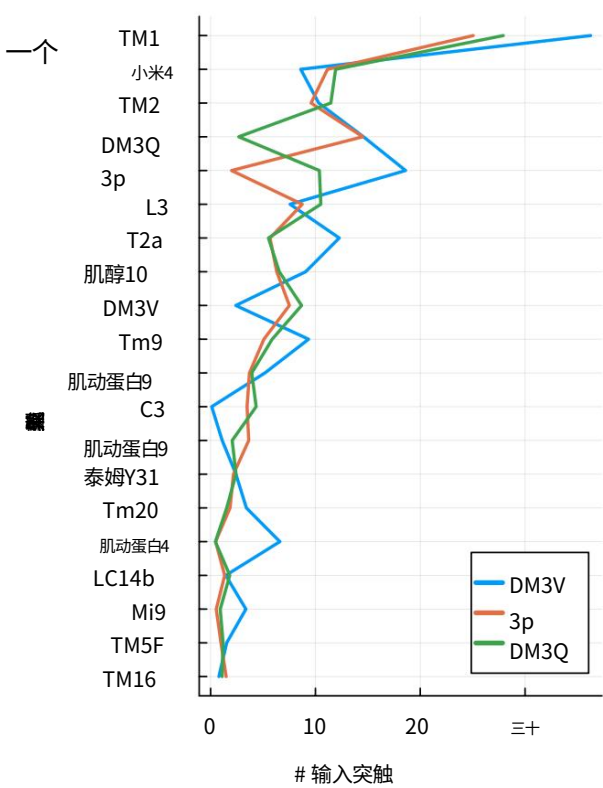
竞争利益作者对 Zetta AI 有经济利益。

附加信息

补充信息在线版本包含补充材料,可在<https://doi.org/10.1038/s41586-024-07953-5> 上查阅。

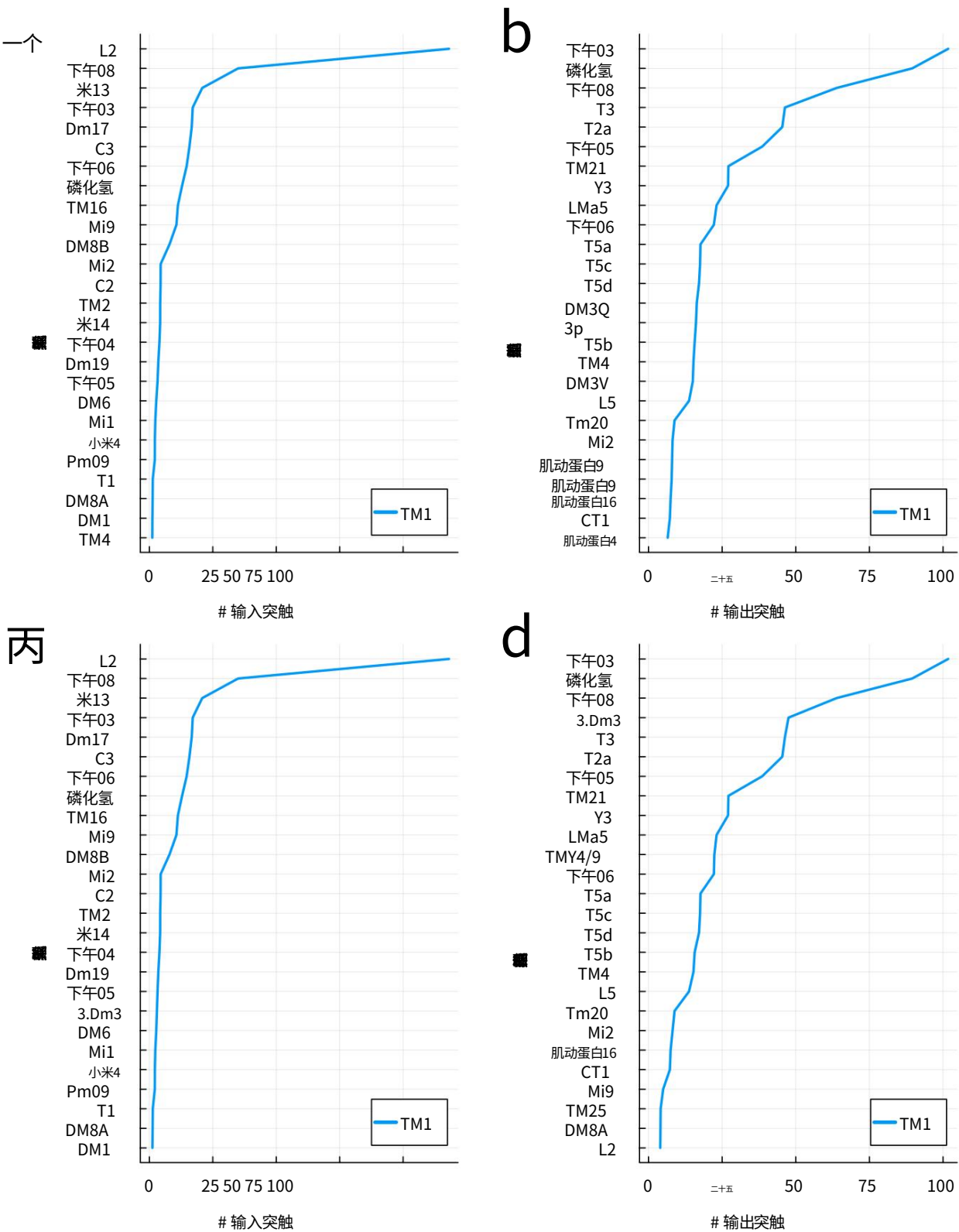
信件和材料请求请发送至 H. Sebastian Seung。
同行评审信息《自然》感谢 James Bennett,Stephanie Palmer 和 Antoine Wystrach 对本文同行评审的贡献。同行评审报告可供查阅。
重印和许可信息可在<http://www.nature.com/reprints>上找到。

分析



扩展数据图 1 | Dm3 输入和输出。a, Dm3 细胞从输入细胞类型接收的输入突触的平均数量,按它们在所有三种 Dm3 类型上产生的突触总数排序。b, Dm3 细胞发送到输出细胞类型的输出突触的平均数量,按它们在所有三种 Dm3 类型上产生的突触总数排序。

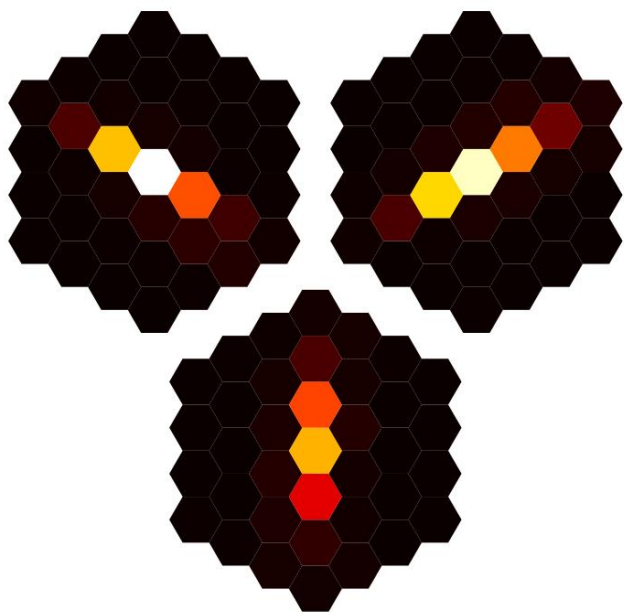
按它们从所有三种 Dm3 类型接收的突触总数排序。c, 与 (a) 相同,但 Dm3v、Dm3p 和 Dm3q 分组到突触前类 Dm3,而 TmY4、TmY9q 和 TmY9q 分组到突触前类 TmY4/TmY9。d, 与 (b) 相同,但 Dm3 和 TmY4/TmY9 分组除外。



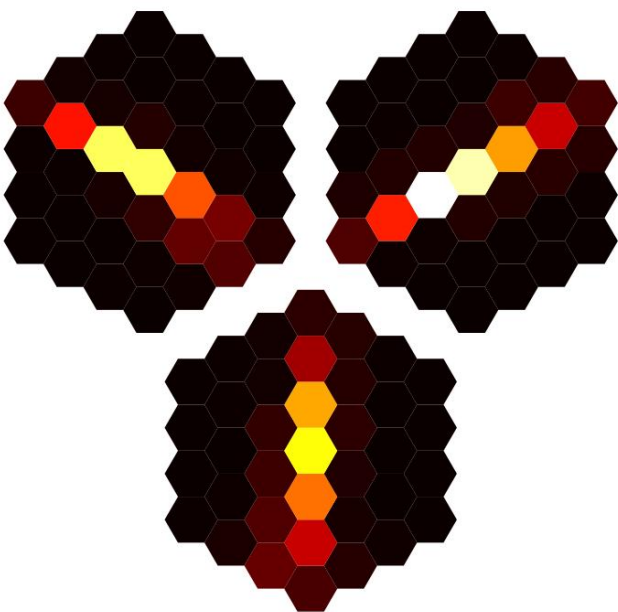
扩展数据图 2 | Tm1 输入和输出。a, Tm1 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。b, Tm1 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。c, 与(a)相同, 除了 Dm3v、Dm3p 和 Dm3q 被分组到突触前类 Dm3, 而 TmY4、TmY9q 和 TmY9qL 被分组到突触前类 TmY4/TmY9.d, 与 (b) 相同, 除了 Dm3 和 TmY4/TmY9 分组。

分析

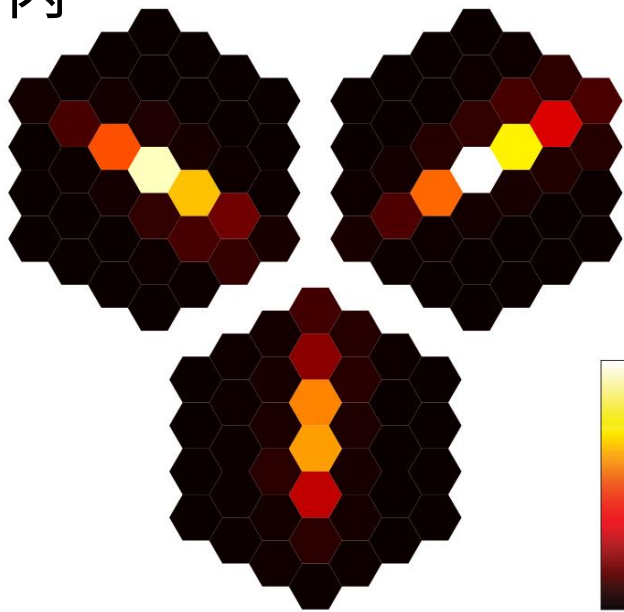
一个



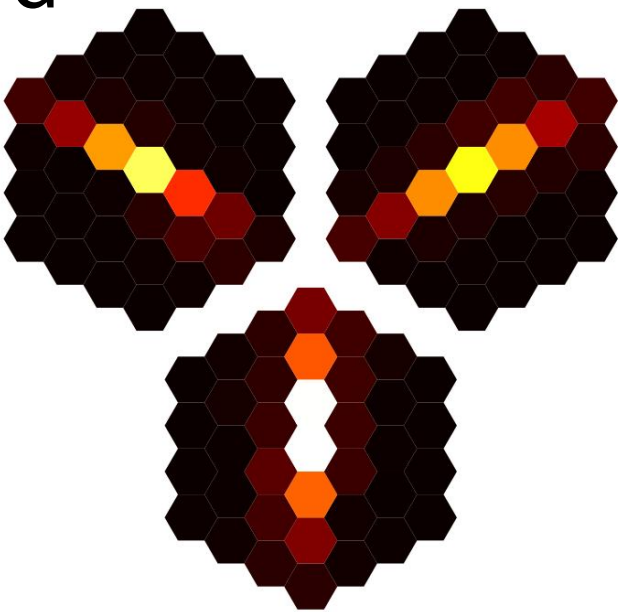
b



丙

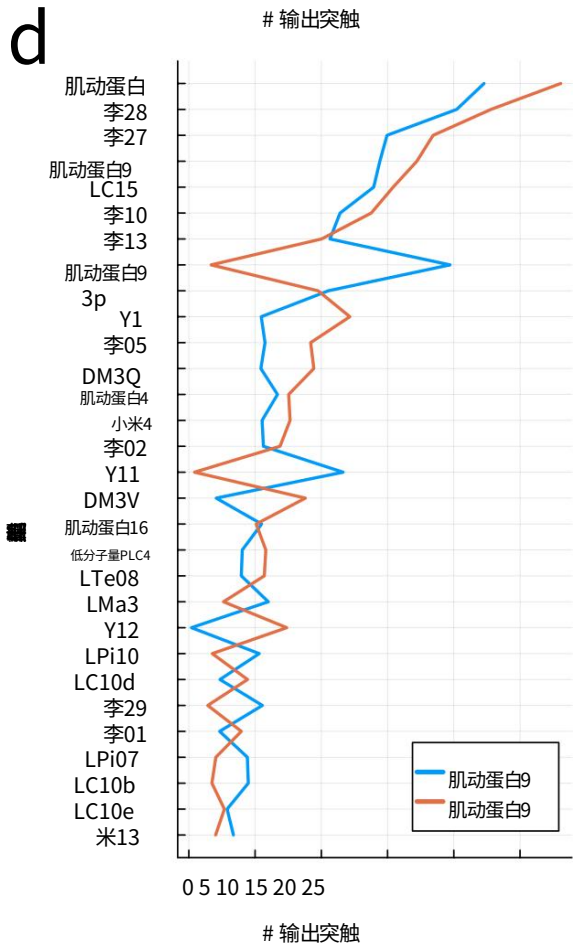
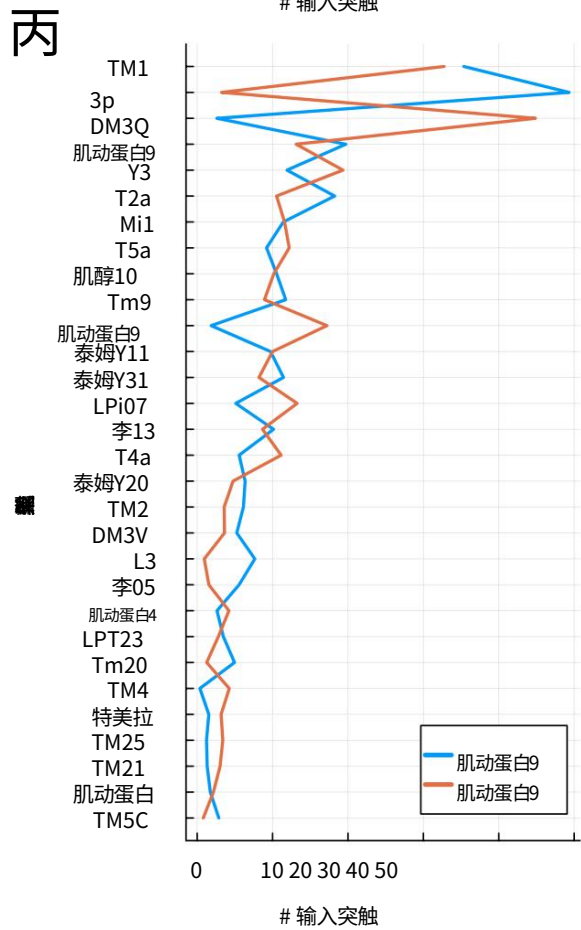
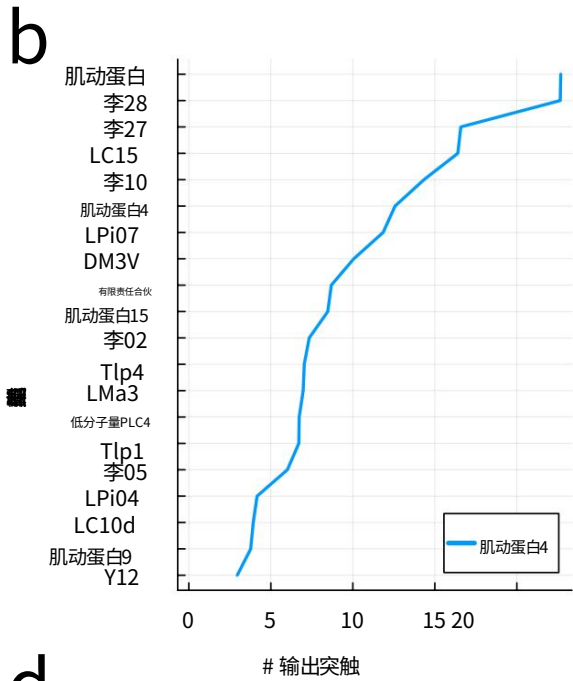
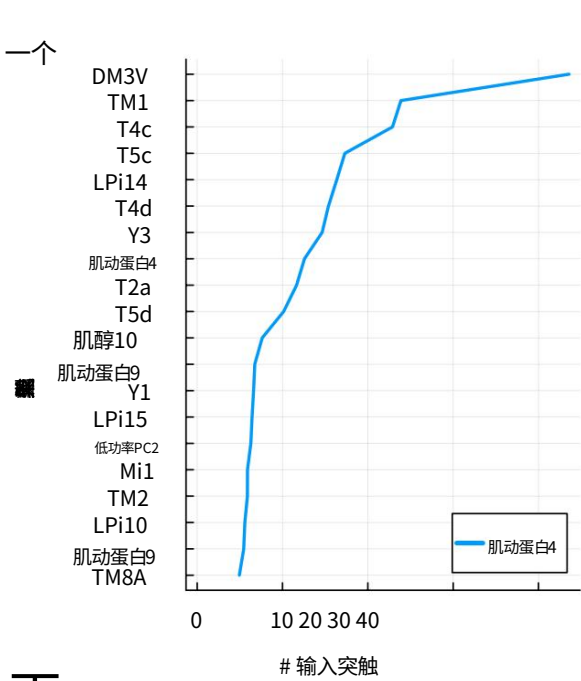


d



扩展数据图 3 | 从六边形类型到 Dm3 的平均连接图。
对齐和平均后,与 Dm3 连接最强 (在 Tm1 之后)的六边形类型的连接图。突触前六边形类型为
Mi4 (a)、Tm2 (b)、L3 (c) 和 Tm9 (d),每个面板中的突触后 Dm3 类型为 Dm3v (底部)、Dm3p (左上)
和 Dm3q (右上)。地图以每六边形突触为单位。对于每个面板,颜色图的最大值 (白色)为

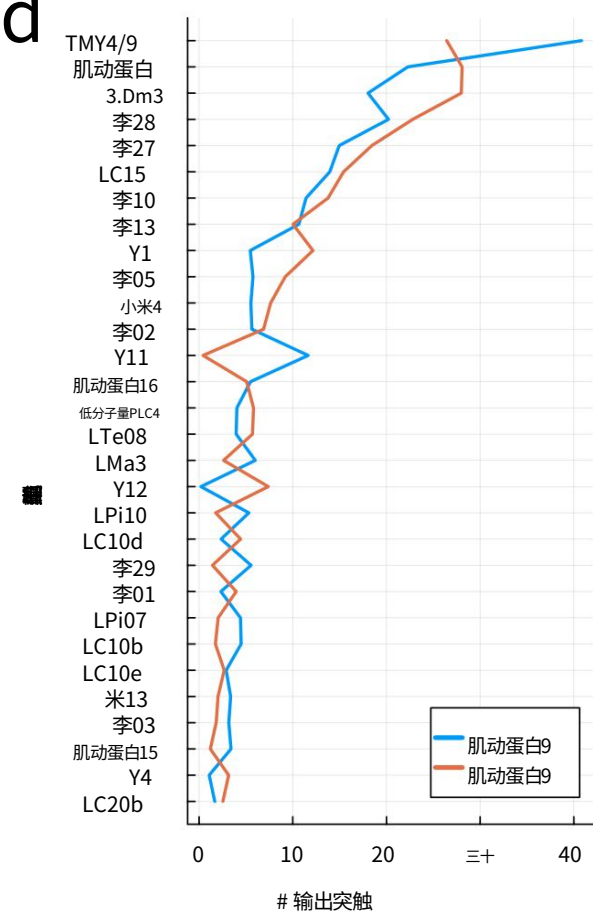
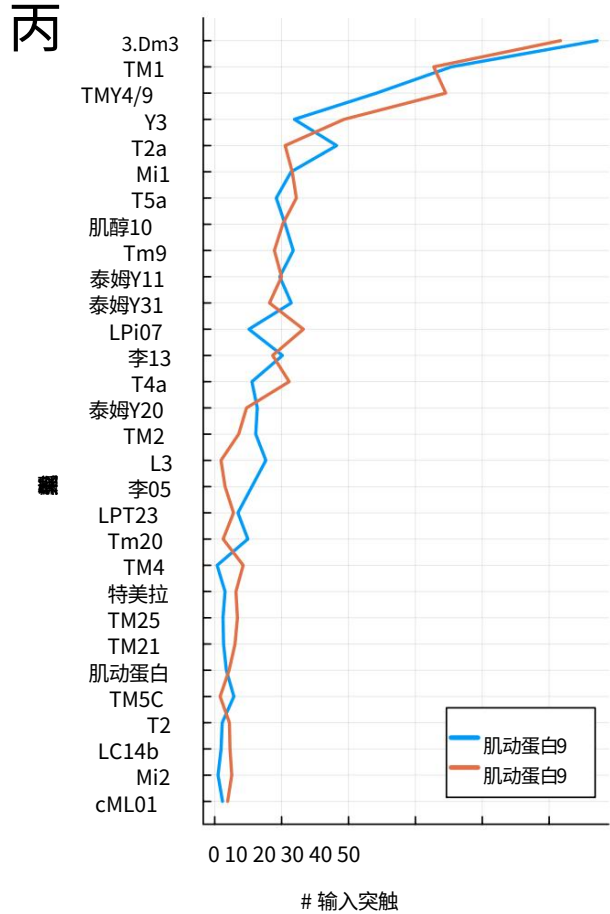
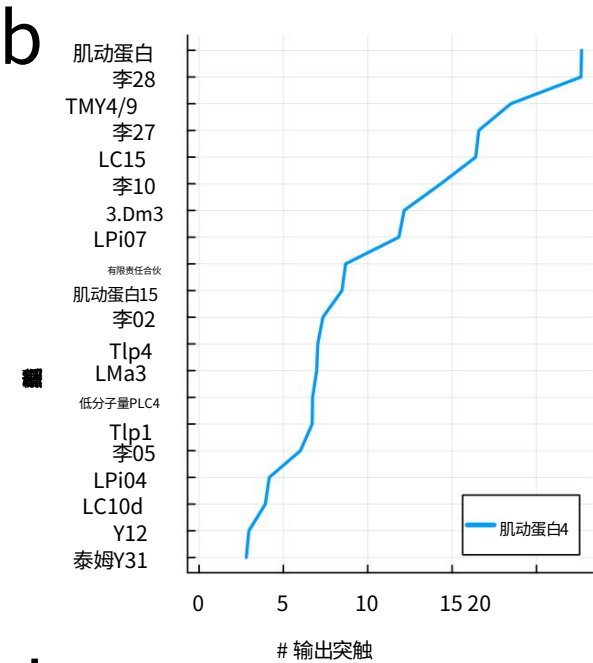
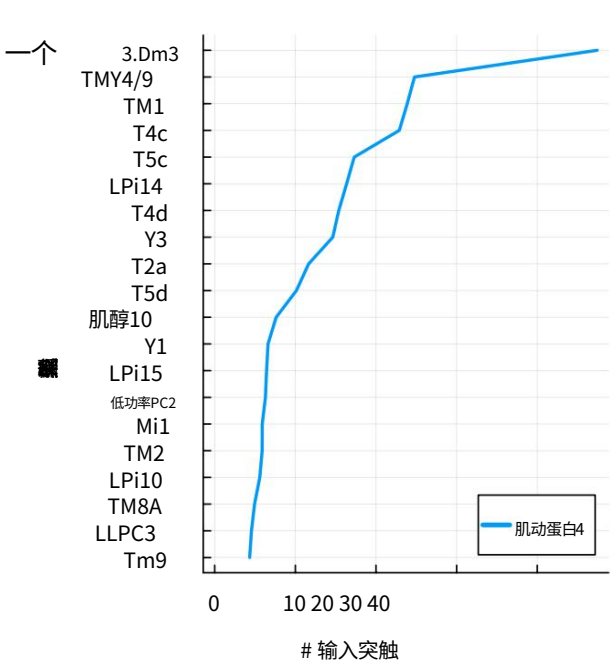
左侧的三个数字表示,最小值为零。每个 Dm3 细胞的位置是根据 Tm1-Dm3 连接图 (方法) 计算
得出的,因此平均图揭示了相对于 Tm1-Dm3 图的任何系统空间偏移。例如,L3-Dm3v 图向上移动了
大约半个六边形。图 1 给出了 Dm3 细胞编号。



扩展数据图 4 | TmY4 和 TmY9 输入和输出。a, TmY4 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。b, TmY4 细胞发送到突触后细胞的输出突触的平均数量。

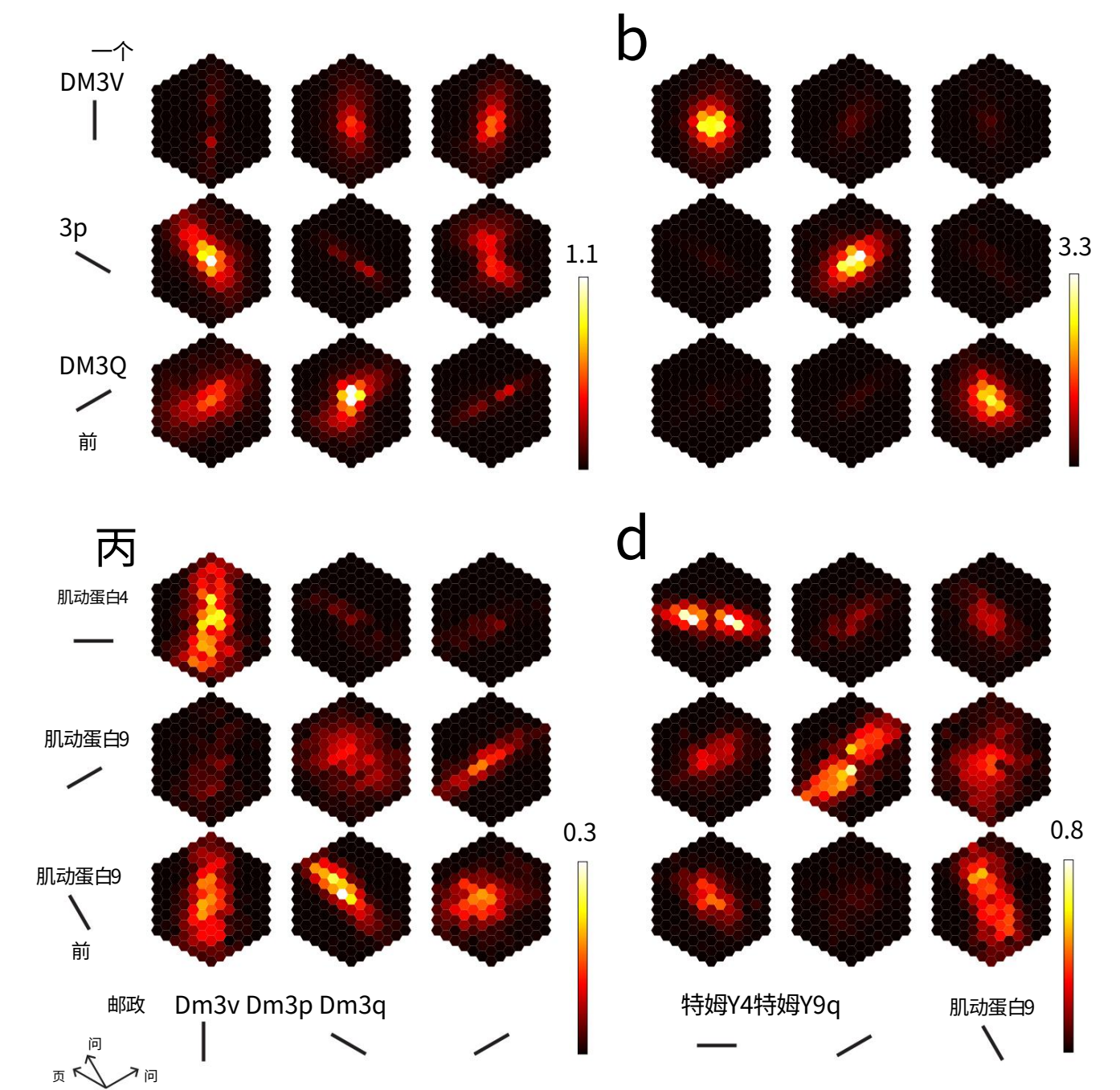
类型。c, TmY9 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。d, TmY9 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。

分析



扩展数据图 5 | 分组后的 TmY4 和 TmY9 输入和输出。
与扩展数据图 4 相同,但 Dm3v.Dm3p 和 Dm3q 被分组到突触前类 Dm3,而 TmY4、TmY9q 和 TmY9q.L 被分组到突触前类 TmY4/TmY9.a.接收到的输入突触的平均数量

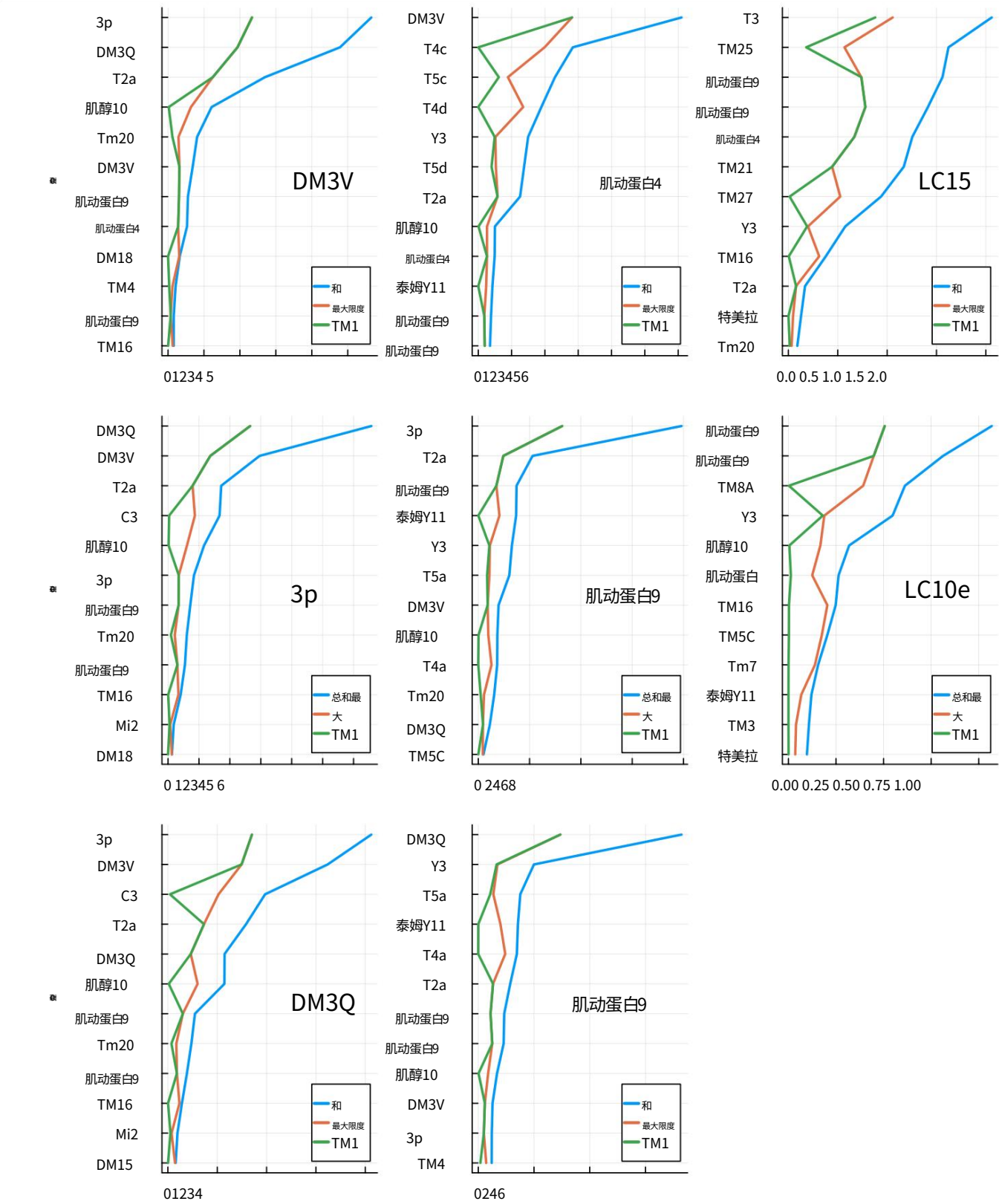
TmY4 细胞从突触前细胞类型接收到的输入突触的平均数量。b,TmY4 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。c,TmY9 细胞从突触前细胞类型接收到的输入突触的平均数量。d , TmY9 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。



扩展数据图 6 | Dm3 和 TmY 横向连接的空间组织。a, 平均 Dm3-Dm3 连接图。每个六边形代表该位置突触前细胞的平均突触数, 假设突触后细胞位于中央六边形。

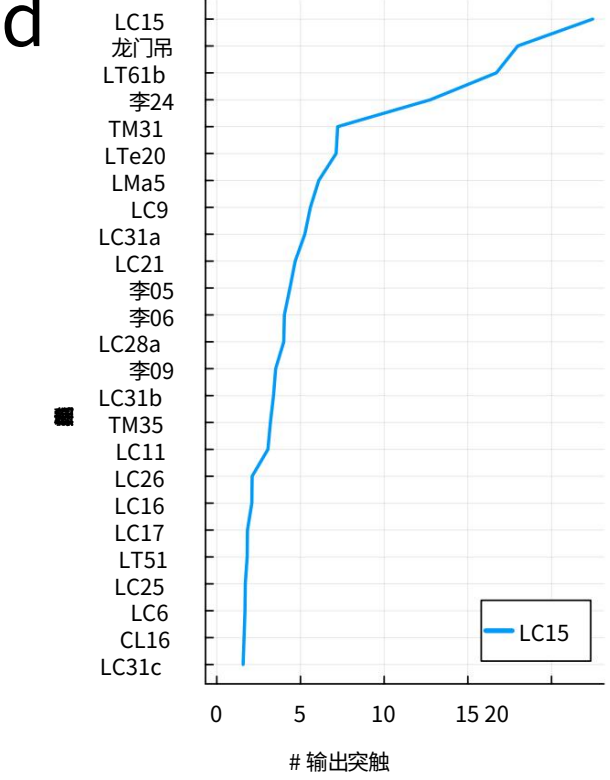
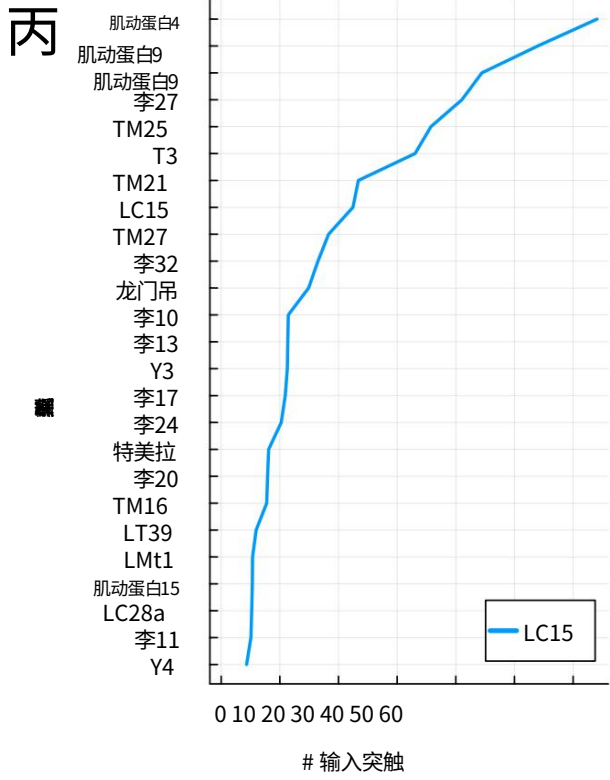
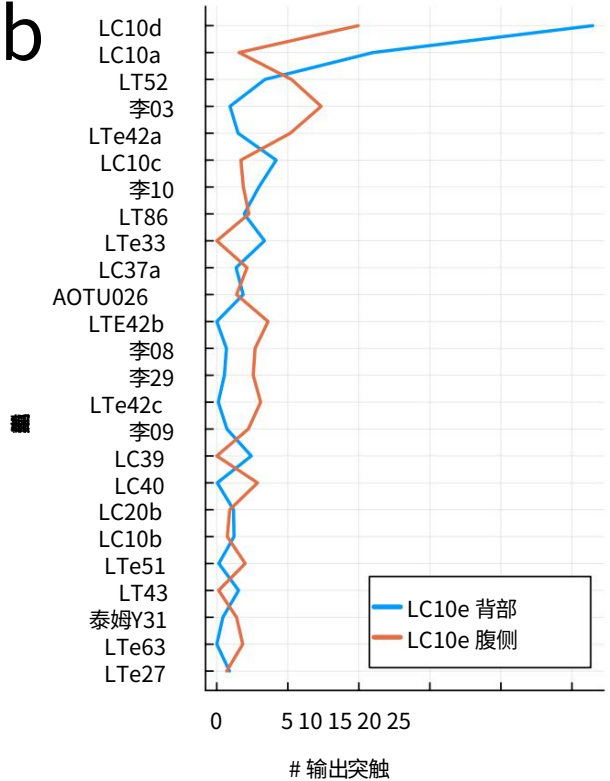
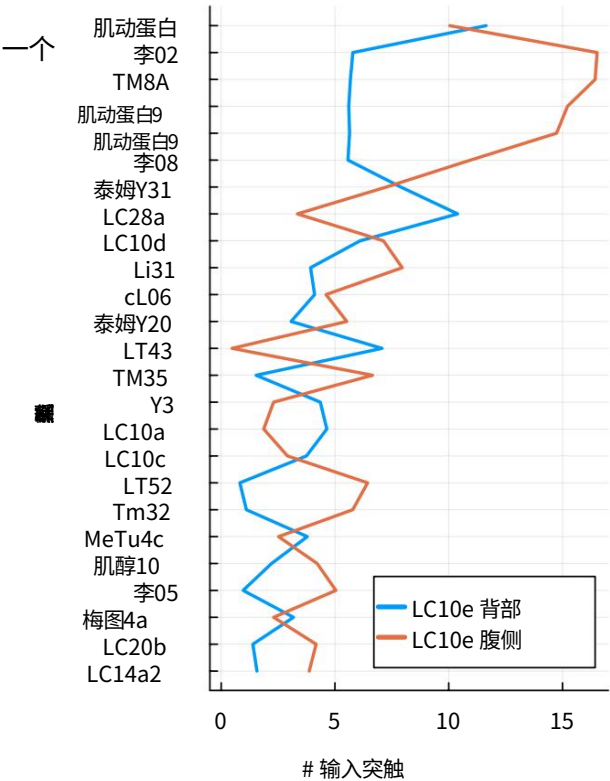
每个细胞均根据其 Tm1 输入计算得出 (方法)。b, 平均 Dm3-TmY 连接图。c, 平均 TmY-TmY 连接图。d, 平均 TmY-TmY 连接图。

分析



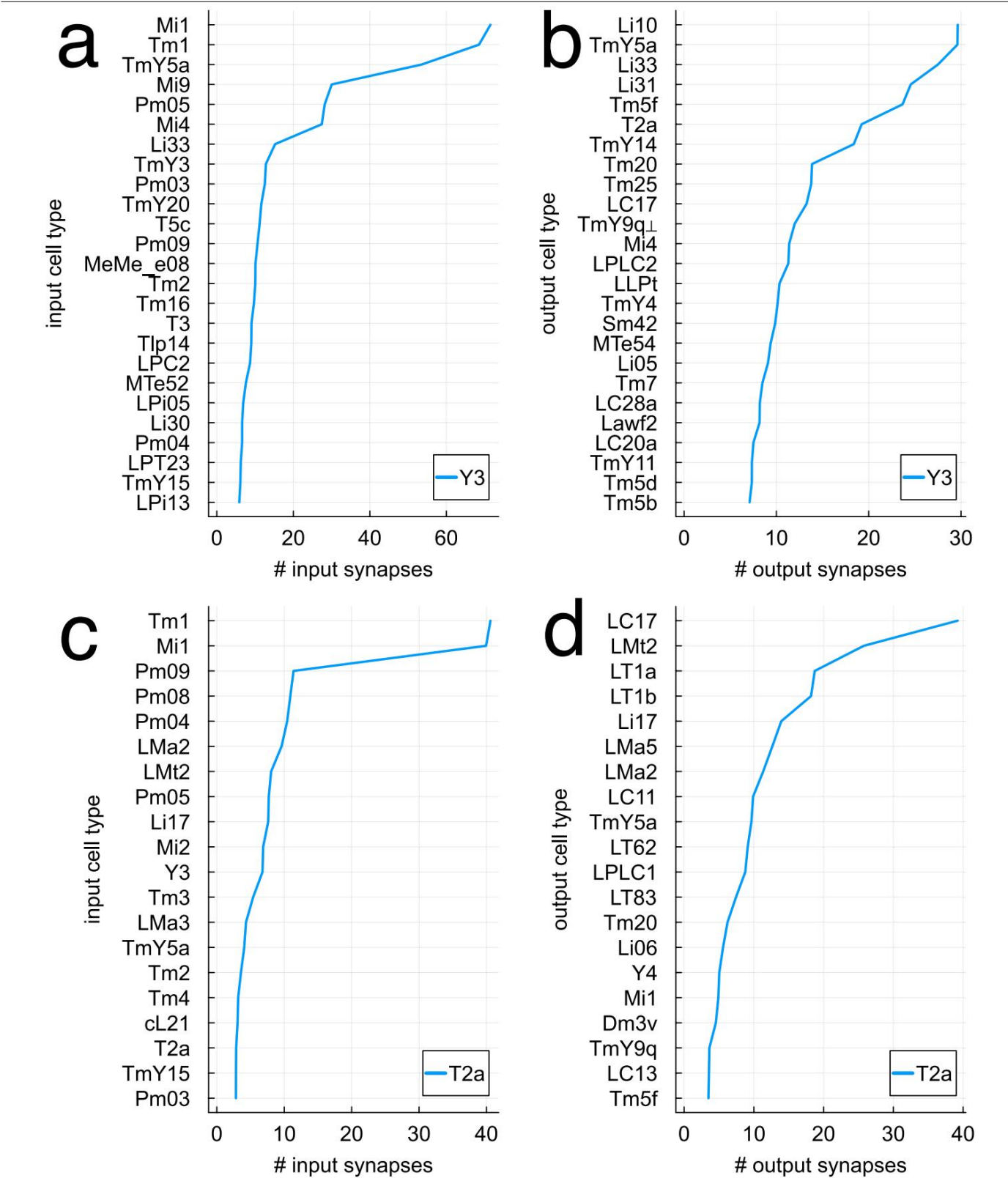
扩展数据图 7 | 双突触通路的强度估计。
从六角形类型到中间类型到 Dm3、TmY 和 LC 目标类型的双突触通路强度（方法）。中间类型被限制为六角形类型。对于每个目标，中间类型通过求和来排序

具有相同中间类型和目标类型但从不同六边形类型开始的通路的强度（蓝色）。还绘制了总和最大项的强度（红色），以及从 Tm1 到中间类型再到目标类型的通路的强度（绿色）。单位为百分比。

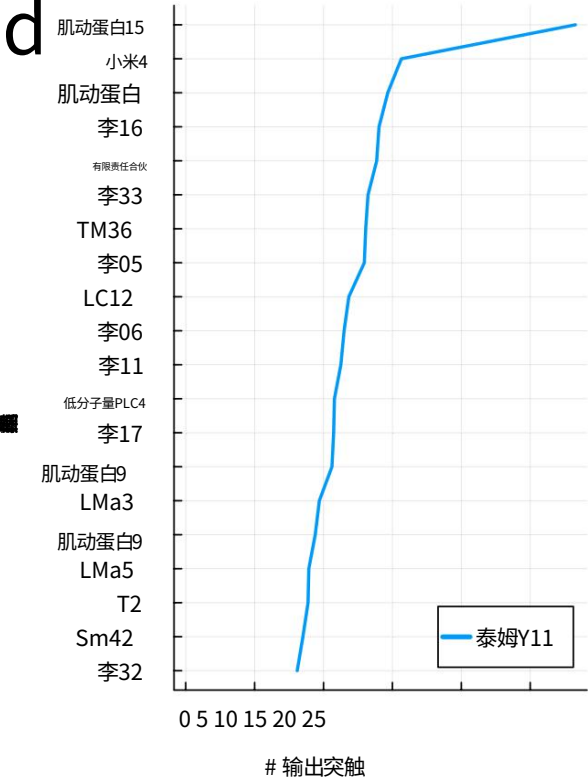
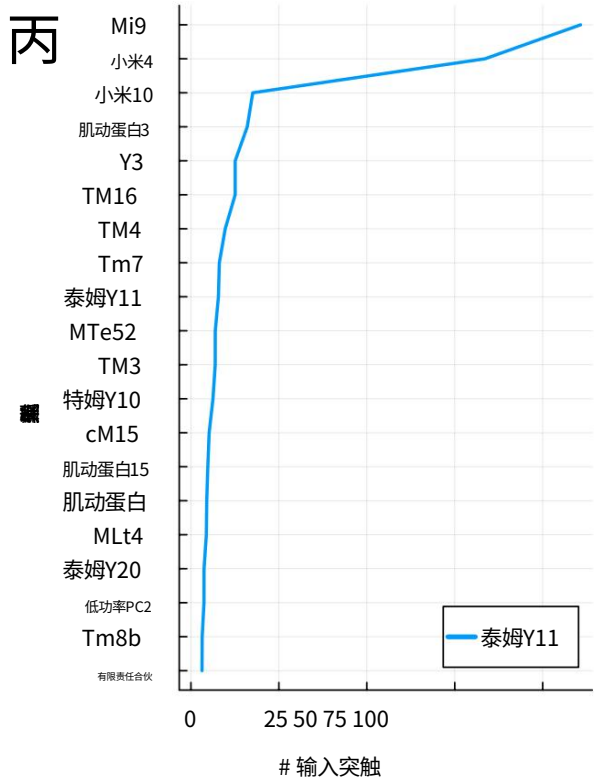
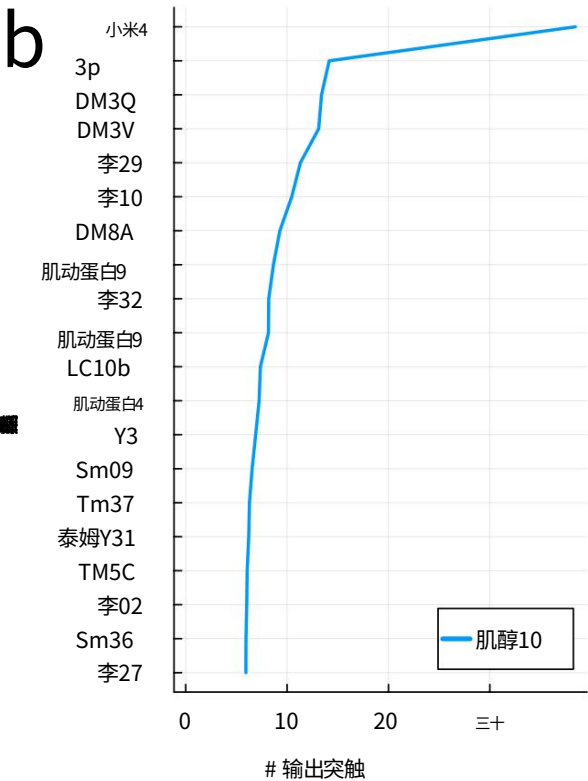
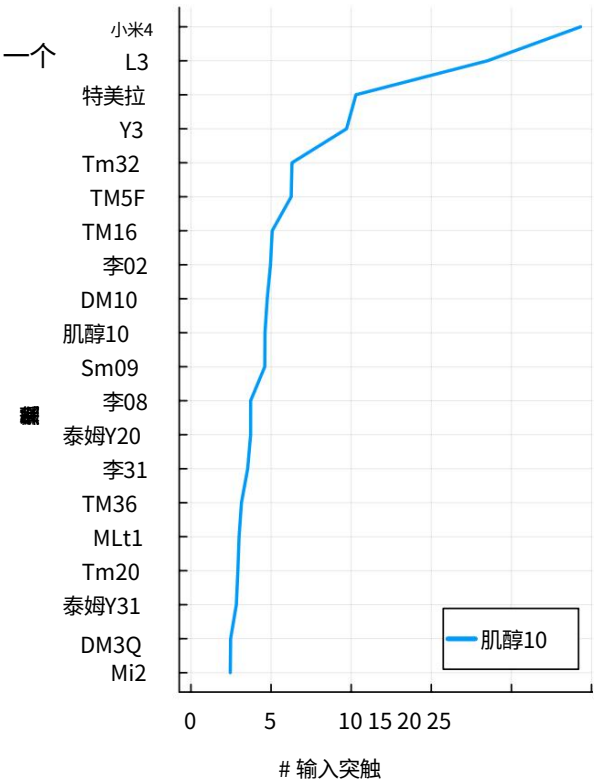


扩展数据图 8 | LC10e 和 LC15 的输入和输出。伙伴细胞仅限于视叶神经元（内在或边界类型），不包括中枢神经元。a, LC10e 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。b, 输出突触的平均数量。c, LC15 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。d, LC15 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。

分析



扩展数据图 9 | Y3 和 T2a 输入和输出。a, Y3 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。b, Y3 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。c, T2a 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。d, T2a 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。



扩展数据图 10 | TmY10 和 TmY11 输入和输出。a, TmY10 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。b, TmY10 细胞发送到突触后细胞的输出突触的平均数量。c, TmY11 细胞从突触前细胞类型接收的输入突触的平均数量。d, TmY11 细胞发送到突触后细胞类型的输出突触的平均数量。

报告摘要

Nature Portfolio 希望提高我们发表作品的可重复性。此表单提供了报告一致性和透明度的结构。有关 Nature Portfolio 政策的更多信息,请参阅我们的[编辑政策](#)和[编辑政策清单](#)。

统计数据

对于所有统计分析,请确认图例、表格图例、正文或方法部分中存在以下项目。

不适用已确认

- ☐
- ☒ 每个实验组/条件的精确样本量 (n) ,以离散数字和测量单位给出
- ☒
- ☐ 关于测量是否取自不同样本或是否重复测量同一样本的说明
- ☒
- ☐ 所使用的统计检验以及它们是单侧还是双侧,只有常见的检验才应该仅通过名称来描述;在方法部分中描述更复杂的技术。
- ☒
- ☐ 对所有测试的协变量的描述
- ☒
- ☐ 任何假设或更正的描述,例如正态性检验和多重比较调整
- ☐
- ☒ 统计参数的完整描述,包括集中趋势 (例如均值)或其他基本估计值 (例如回归系数)和变化 (例如标准差)或相关的不确定性估计 (例如置信区间)
- ☒
- ☐ 对于零假设检验,检验统计量 (例如F、 t、 r)具有置信区间、效应大小、自由度和P值,并在适当的情况下将 P 值给出为精确值。
- ☒
- ☐ 对于贝叶斯分析,有关先验选择和马尔可夫链蒙特卡罗设置的信息
- ☒
- ☐ 对于分层和复杂的设计,确定适当的测试级别并全面报告结果
- ☒
- ☐ 效应大小的估计值 (例如 Cohen's d、Pearson's r) ,表明其计算方式

我们的[生物学家统计数据网络](#)收集了有关上述许多观点的文章。

软件和代码

有关[计算机代码可用性的政策信息](#)

数据收集

提供用于收集本研究数据的所有商业、开源代码和自定义代码的描述,并指定使用的版本或声明未使用任何软件。

数据分析

用于复制图形的代码将在出版时或出版之前存放在社区存储库中。

对于使用自定义算法或软件的稿件,这些算法或软件对于研究至关重要但尚未在已发表的文献中描述,必须向编辑和审稿人提供软件。我们强烈建议将代码存放在社区存储库 (例如 GitHub)中。有关更多信息,请参阅 [Nature Portfolio提交代码和软件的指南](#)。

数据

有关[数据可用性的政策信息](#)

- 所有稿件均须包含[数据可用性声明](#)。此声明应提供以下信息 (如适用) :
- 公开数据集的接入码、唯一标识符或网络链接
 - 对数据可用性的任何限制的描述
 - 对于临床数据集或第三方数据,请确保声明符合我们的[政策](#)

原始数据可在 [FlyWire Codex \(codex.flywire.ai\)](#) 上获取。派生数据已存放在 <https://zenodo.org/records/11388746>

涉及人类参与者、其数据或生物材料的研究

有关人类参与者或人类数据研究的政策信息。另请参阅有关性别、性别特征（身份/表现）、性取向以及种族、民族和种族主义的政策信息。

关于性别和性别的报告	谨慎使用性别（生物属性）和性别特征（受社会和文化环境影响），以避免混淆这两个术语。指出研究结果是否仅适用于一种性别或性别特征；描述是否考虑了性别和性别特征研究设计；性别和/或性别特征是根据自我报告还是分配来确定的，以及所使用的方法。在源数据中提供已收集的分类性别和性别数据，如果已征得同意已收集个人层面的数据以供共享；请在本报告摘要中提供总体数字。如未收集此类信息，请说明。 报告进行的基于性别和性别特征的分析，解释缺乏基于性别和性别特征的分析的原因。
报道种族、民族或其他社会相关群体	请指定稿件中使用的社会建构或社会相关分类变量，并解释原因它们被使用。请注意，这些变量不应被用作其他社会建构/相关变量的代理（例如，种族或民族不应被用作社会经济地位的代表）。提供所使用的相关术语的明确定义、这些术语的提供方式（由参与者/受访者、研究人员或第三方提供）以及将人们划分为不同类别的方法（例如自我报告、人口普查或管理数据、社交媒体数据等）请提供有关如何在分析中控制混杂变量的详细信息。
种群特征	描述人类研究参与者的协变量相关人口特征（例如年龄、基因型信息、过去和现在的诊断和治疗类别）。如果您已经填写了行为和社会科学研究设计问题，但这里没有什么可补充的，请写“见上文”。
招聘	描述参与者的招募方式，概述可能存在的任何潜在自我选择偏见或其他偏见，并这些可能会如何影响结果。
道德监督	确定批准研究方案的组织。

请注意，手稿中还必须提供有关研究方案批准的完整信息。

特定领域的报告

请选择以下最适合您研究的选项。如果您不确定，请在做出选择之前阅读相应部分。

☒ 生命科学 ☐ 行为与社会科学 ☐ 生态、进化与环境科学

有关包含所有章节的文件参考副本，请参阅[nature.com/documents/nr-reporting-summary-flat.pdf](https://www.nature.com/documents/nr-reporting-summary-flat.pdf)

生命科学研究设计

所有研究都必须披露这些要点，哪怕披露的是负面的。

样本大小	统计数据是描述性的，而不是假设检验性的。
数据排除没有排除任何数据。	
复制	一项基本发现是，发现了第三种 Dm3 类型，并将 TmY9 分为两种类型，这一发现最初是在右视叶中发现的，现在已在左视叶中得到重复。随着其他果蝇连接组的出现，我们期待进一步重复这一发现。
随机化统计是描述性的，而不是假设检验的。	
致盲	统计数据是描述性的，而不是假设检验性的。

针对特定材料、系统和方法的报告

我们需要作者提供有关许多研究中使用的某些类型的材料、实验系统和方法的信息。在这里，请指出列出的每种材料、系统或方法是否与您的研究相关。如果您不确定列表项是否适用于您的研究，请在选择答案之前阅读相应部分。

材料与实验系统

n/a参与研究

☐

☐

抗体

☐

☐

真核细胞系

☐

☐

古生物学和考古学

☐

☐

动物和其他生物

☐

☐

临床数据

☐

☐

值得关注的双重用途研究

☐

☐

植物

方法

n/a参与研究

☐

☐

ChIP-seq

☐

☐

流式细胞术

☐

☐

基于 MRI 的神经成像

抗体

所用抗体

描述研究中使用的所有抗体 ;如适用 ,提供供应商名称、目录编号、克隆名称和批号。

验证

描述每种一抗针对物种和应用的验证情况 ,并注明任何验证声明
制造商的网站、相关引文、在线数据库中的抗体概况或手稿中提供的数据。

真核细胞系

关于细胞系和研究中的性别和性别特征的政策信息

细胞系来源

说明所用每种细胞系的来源 ,以及来自人类参与者的所有原代细胞系和细胞的性别或
脊椎动物模型。

验证

描述所使用的每种细胞系的认证程序 ,或声明所使用的细胞系均未经过认证。

支原体污染

确认所有细胞系支原体污染检测均为阴性 ,或描述检测结果
支原体污染或声明细胞系未经过支原体污染测试。

经常被误认的线路
(参见ICLAC登记册)

说出研究中使用的任何常被错误识别的细胞系的名称并提供其使用的理由。

古生物学和考古学

标本出处

提供标本的出处信息 ,并描述为该工作获得的许可证 (包括作者名称
许可证应包括收集和出口 (如适用))。

标本沉积

标明标本的存放地点 ,以允许其他研究人员自由获取。

约会方法

如果提供了新的日期 ,请描述如何获得它们 (例如收集、储存、样品预处理和测量) ,其中
获得它们的日期 (即实验室名称) 、校准程序和质量保证协议 ,或声明未提供新的日期。

☐

勾选此框以确认原始日期和校准日期可在论文或补充信息中查阅。

道德监督

确定批准或提供研究方案指导的组织 ,或声明没有伦理批准或指导
是必需的 ,并解释为什么不是。

请注意,手稿中还必须提供有关研究方案批准的完整信息。

动物和其他研究生物

关于涉及动物的研究的政策信息 ;ARRIVE建议报告动物研究的指南 ,以及研究

实验动物

对于实验动物 ,报告种类、品系和年龄 ,或声明研究不涉及实验动物。

野生动物

提供在野外观察到或捕获的动物的详细信息 ;尽可能报告物种和年龄 ;描述动物是如何
捕获和运输情况 ,以及研究结束后圈养动物的情况 (如果被杀死 ,解释原因并描述方法 ;如果被释放 ,
请说出研究地点和时间)或说明该研究不涉及野生动物。

报道性别

指出研究结果是否仅适用于一种性别 ;描述研究设计中是否考虑了性别 ,以及用于指定性别的方法。
如果源数据中已收集了性别信息 ,则提供按性别分列的数据 ;提供总体

本报告摘要中的数字。请说明是否未收集此信息。报告已进行的基于性别的分析,并说明缺乏基于性别的分析的原因。

现场采集的样本对于使用现场采集样本进行的实验室工作,描述所有相关参数,如住房、维护、温度、光周期和实验结束协议,或声明该研究不涉及从现场采集的样本。

道德监督确定批准或提供研究方案指导的组织,或者声明不需要伦理批准或指导并解释原因。

请注意,手稿中还必须提供有关研究方案批准的完整信息。

临床数据

有关[临床研究](#)的政策信息所有稿件都应符合 ICMJE[临床研](#)
[究出版指南](#),并且所有提交的稿件都必须附上完整的[CONSORT 清单](#)。

临床试验注册提供 ClinicalTrials.gov 或同等机构颁发的试验注册号。

研究方案请注明在哪里可以获取完整的试验方案,如果无法获取,请解释原因。

数据收集描述数据收集的设置和地点,并注意招募和数据收集的时间段。

结果描述您如何预先定义主要和次要结果测量以及如何评估这些测量。

值得关注的双重用途研究

关于[值得关注的双重用途研究](#)的政策信息

危害

意外、故意或鲁莽地滥用工作中产生的药剂或技术,或应用手稿中提供的信息,是否会对以下方面造成威胁:

否是	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 公共卫生
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 国家安全
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 农作物和/或牲畜
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 生态系统
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 任何其他重要区域

值得关注的实验

这项工作是否涉及以下令人担忧的实验:

否是	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 演示如何使疫苗无效
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 赋予对治疗有用的抗生素或抗病毒药物的抵抗力
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 增强病原体的毒性或使非病原体具有毒性
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 增加病原体的传播能力
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 改变病原体的宿主范围
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 能够逃避诊断/检测方式
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 使生物制剂或毒素武器化
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 任何其他可能有害的实验和药剂组合

植物

种子库存	报告所有种子库存或其他植物材料的来源。如适用,请说明种子库存中心和目录编号。如果植物标本是从野外采集的,描述采集地点、日期和采样程序。
新型植物基因型	描述产生所有新型植物基因型的方法。这包括通过转基因方法产生的植物基因型,基因编辑、化学/辐射诱变和杂交。对于转基因株系,描述转化方法、分析的独立细胞系数量以及进行实验的代数。对于基因编辑的细胞系,描述所使用的编辑器、要编辑的内源序列、靶向向导 RNA 序列 (如果适用)以及如何应用编辑器。
验证	描述所用的每个种子库或产生的新基因型的认证程序。描述用于评估突变的影响,以及可能的次要影响 (如第二位点 T-DNA 插入、嵌合性、我们研究了脱靶基因编辑 (off-target gene editing) 。

ChIP-seq

数据沉积

☐ 确认原始数据和最终处理后的数据都已存入GEO 等公共数据库。

☐ 确认您已存入或提供了对所调用峰值的图形文件 (例如 BED 文件)的访问权限。

数据访问链接	对于“初次提交”或“修订版本”文档,请提供审阅者访问链接。对于“最终提交”文档,提供已存数据的链接。
数据库提交中的文件	提供数据库提交中可用的所有文件的列表。
基因组浏览器会话 (例如UCSC)	仅为“初次提交”和“修订版本”文档提供匿名基因组浏览器会话的链接,以便启用同行评审。在“最终提交”文档中写入“不再适用”。

方法论

重复	描述实验重复,指定数量,类型和重复一致性。
测序深度	描述每个实验的测序深度,提供读取总数、唯一映射读取、读取长度和无论它们是配对的还是单端的。
抗体	描述用于 ChIP-seq 实验的抗体,如适用,提供供应商名称、目录编号、克隆名称和批号。
峰值调用参数	指定用于读取映射和峰值调用的命令行程序和参数,包括 ChIP-控制索引文件用过的。
数据质量	详细描述用于确保数据质量的方法,包括有多少个峰的 FDR 为 5% 且富集度超过 5 倍。
软件	描述用于收集和分析 ChIP-seq 数据的软件。对于已存入社区的自定义代码存储库,提供访问详细信息。

流式细胞术

图

确认:

☐ 轴标签标明所使用的标记和荧光染料 (例如 CD4-FITC) 。

☐ 轴刻度清晰可见。仅包含组左下角图的轴上数字 (“组”是对相同标记的分析) 。

☐ 所有图都是带有异常值或伪彩色图的轮廓图。

☐ 提供了细胞数量或百分比 (带有统计数据)的数值。

方法论

样品制备	描述样品制备,详细说明细胞的生物来源和所使用的任何组织处理步骤。
乐器	识别用于数据收集的仪器,并指定品牌和型号。
软件	描述用于收集和分析流式细胞术数据的软件。对于已存入社区存储库,提供访问详细信息。

细胞群体丰度

描述分选后组中相关细胞群的丰度,提供有关纯度的详细信息
样本及其确定方法。

门控策略

描述所有相关实验所用的门控策略,指定起始细胞的初步 FSC/SSC 门控
种群,指示“阳性”和“阴性”染色细胞群之间的边界的定义。

☐ 勾选此框以确认补充信息中提供了举例说明门控策略的图表。

磁共振成像

实验设计

设计类型

表明任务或静息状态;事件相关或块设计。

设计规格

指定每个会话和/或主题的区块、试验或实验单元的数量,并指定每次试验的长度
或阻止(如果试验被阻止)以及试验之间的间隔。

行为表现测量 说明记录的变量数量和/或类型

(例如,正确的按钮按下、响应时间)以及使用的统计数据
确定受试者是否按预期执行任务(例如平均值、范围和/或标准差
主题)。

获得

成像类型

具体来说:功能、结构、扩散、灌注。

场强

在特斯拉中指定

序列和成像参数

指定脉冲序列类型(梯度回波、自旋回波等)、成像类型(EPI、螺旋等)、视场、矩阵大小、
切片厚度、方向和 TE/TR/翻转角。

收购区域

说明是否使用了全脑扫描或定义获取区域并描述如何确定该区域。

扩散磁共振成像

☐

用过的

☐

未使用

预处理

预处理软件

提供软件版本和修订号以及具体参数(模型/功能、大脑提取、
分割、平滑核大小等)。

正常化

如果数据是规范化/标准化的,请描述方法:指定线性或非线性,并定义用于
转换或表明数据未经规范化,并解释缺乏规范化的原因。

规范化模板

描述用于规范化/转换的模板,指定主题空间或组标准化空间(例如
原始 Talairach、MNI305、ICBM152) OR 表示数据未经标准化。

消除噪音和伪影

描述伪影和结构噪声去除的程序,指定运动参数、组织信号和
生理信号(心率、呼吸)。

音量审查

定义您的软件和/或体积审查的方法和标准,并说明此类审查的程度。

统计建模与推断

模型类型和设置

指定类型(大规模单变量、多变量、RSA、预测等)并首先描述模型的基本细节
第二级别(例如固定、随机或混合效应;漂移或自相关)。

测试结果

用任务或刺激条件而不是心理概念来定义精确的效果,并指出是否
使用了方差分析或析因设计。

指定分析类型:

☐

整个大脑

☐

基于ROI

☐

两个都

推断的统计类型

指定逐像素或逐聚类并报告逐聚类方法的所有相关参数。

(参见[Eklund 等人 2016 年](#))

更正

描述校正的类型以及如何通过多重比较获得校正(例如 FWE、FDR、排列或蒙特卡洛)。

模型与分析

n/a参与研究

- ☐
- ☐ 功能性和/或有效连接性
- ☐
- ☐ 图表分析
- ☐
- ☐ 多元建模或预测分析

功能性和/或有效连接性

报告所使用的依赖性测量和模型细节（例如皮尔逊相关、偏相关、相互信息）。

图表分析

报告因变量和连通性度量,指定加权图或二值化图,主题或群体级别,以及使用的全局和/或节点摘要（例如聚类系数、效率等）。

多元建模与预测分析指定独立变量、特征提取与降维、模型、训练与评估指标。