Mathématiques appliquées à la cryo-microscopie électronique : ce que l'on fait au MAP5

Rémy Abergel, Sylvain Durand, *Camille Pouchol*, **Raphaël Stussi**

MAP5, Université Paris Cité

DOR MAP5, 4 novembre 2026

Cryo-EM au MAP5 : historique succinct

◇ **Les origines**

- Sujet de recherche actif, à KTH (Stockholm)

Cryo-EM au MAP5 : historique succinct

◇ **Les origines**

- Sujet de recherche actif, à KTH (Stockholm)

◇ **Projet Émergence d'UPC : deux ans de financement**

- Stage de M2 de Raphaël Stussi
- Invitation d'Ozan Öktem (KTH)

Cryo-EM au MAP5 : historique succinct

- **Les origines**
  - Sujet de recherche actif, à KTH (Stockholm)
- **Projet Émergence d'UPC : deux ans de financement**
  - Stage de M2 de Raphaël Stussi
  - Invitation d'Ozan Öktem (KTH)
- **Thèse de Raphaël Stussi, financée par ComplexCité**
  - Séjour de deux semaines à KTH

Cryo-EM au MAP5 : historique succinct

◇ **Les origines**
- Sujet de recherche actif, à KTH (Stockholm)

◇ **Projet Émergence d'UPC : deux ans de financement**
- Stage de M2 de Raphaël Stussi
- Invitation d'Ozan Öktem (KTH)

◇ **Thèse de Raphaël Stussi, financée par ComplexCité**
- Séjour de deux semaines à KTH

◇ **Travail connexe**
- avec Rémy Abergel, Fabienne Comte et Céline Duval

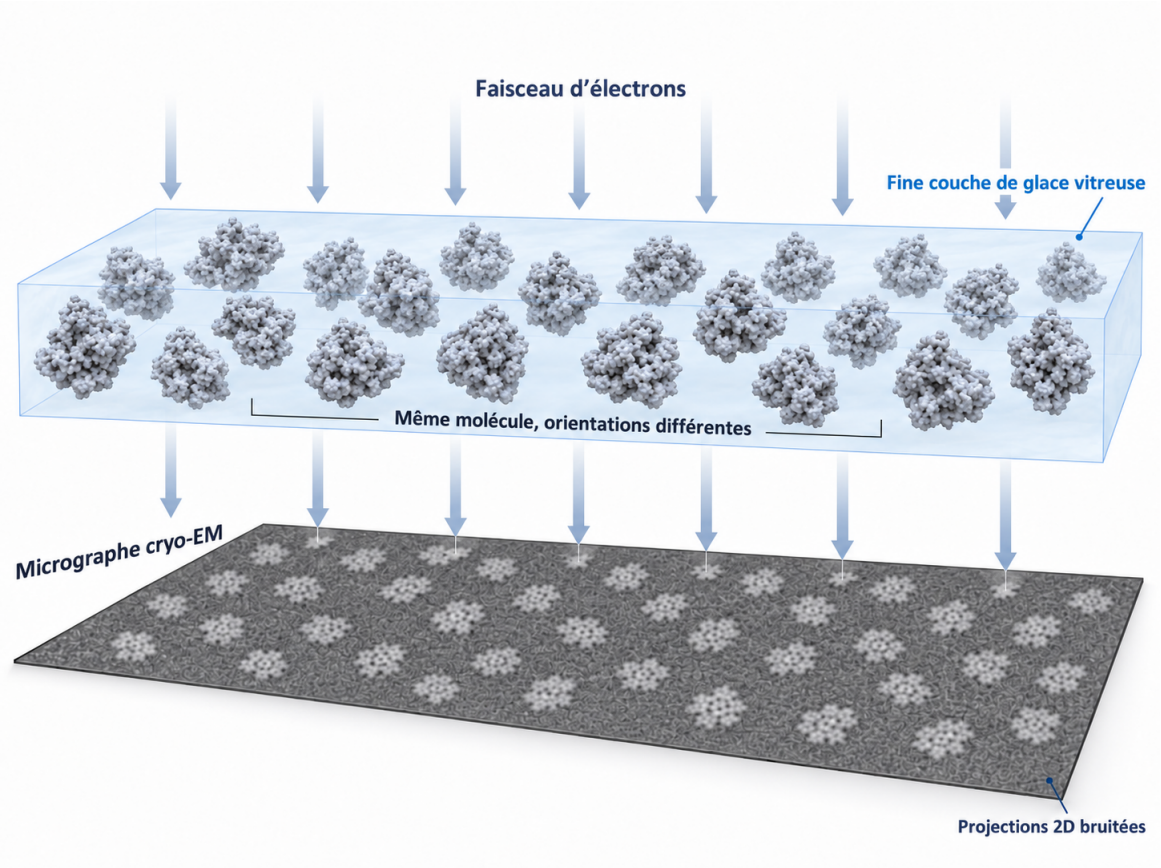
  Estimating the intensity of a filtered Poisson point process on $\mathbb{R}^d$ [1]

$\rightsquigarrow$ un projet transverse aux équipes du MAP5, impliquant des échanges avec KTH

[1] Abergel, Comte, Duval et Pouchol, *Estimating the intensity of a filtered Poisson point process on* $\mathbb{R}^d$, J. Multivar. Anal. 215, 105660 (2026).

La cryo-microscopie électronique, qu'est-ce ?

Cryo-microscopie électronique (cryo-EM)



Vitrification

molécules **identiques** piégées dans une fine couche de glace vitreuse

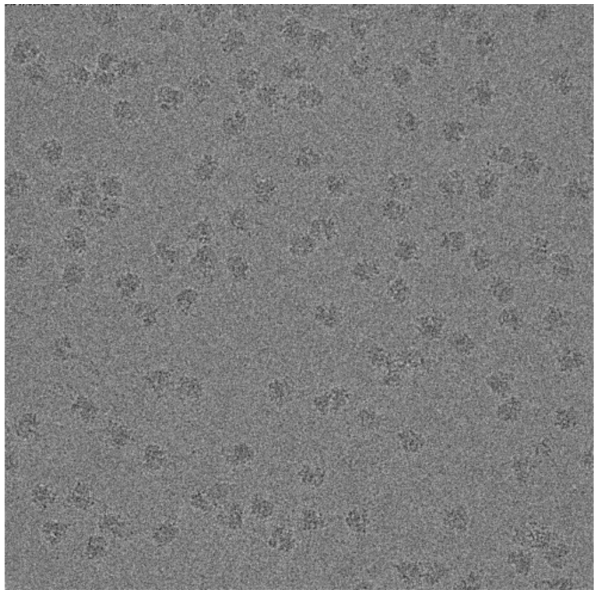
Acquisition

spécimen imagé par un microscope électronique

Micrographe

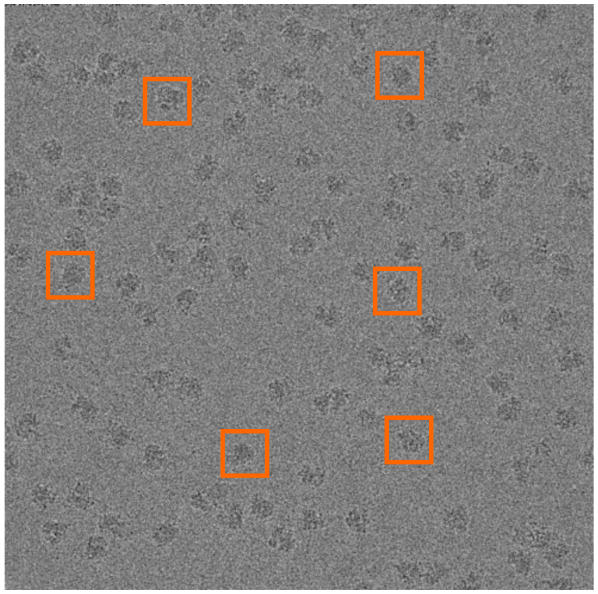
image contenant les projections 2D

La chaîne de traitement en cryo-EM



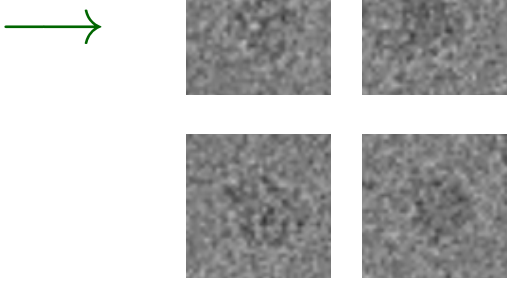
Micrographe

La chaîne de traitement en cryo-EM



Micrographe

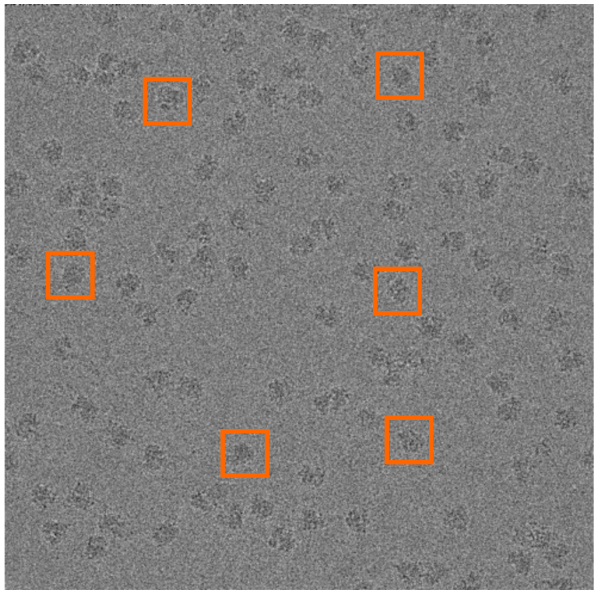
issu du microscope



Projections 2D

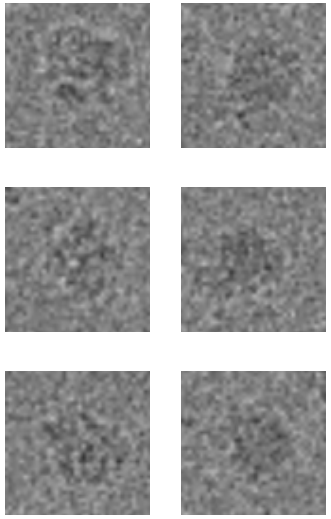
après extraction

La chaîne de traitement en cryo-EM



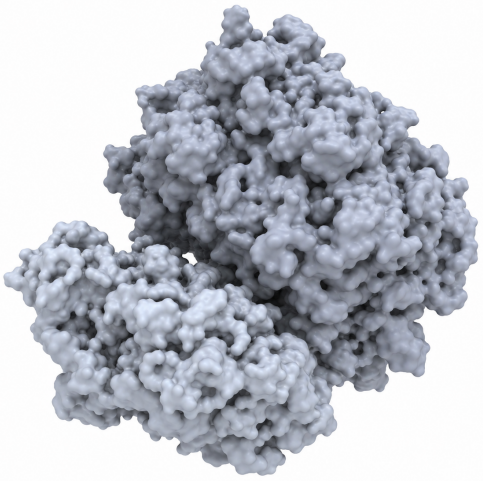
Micrographe

issu du microscope



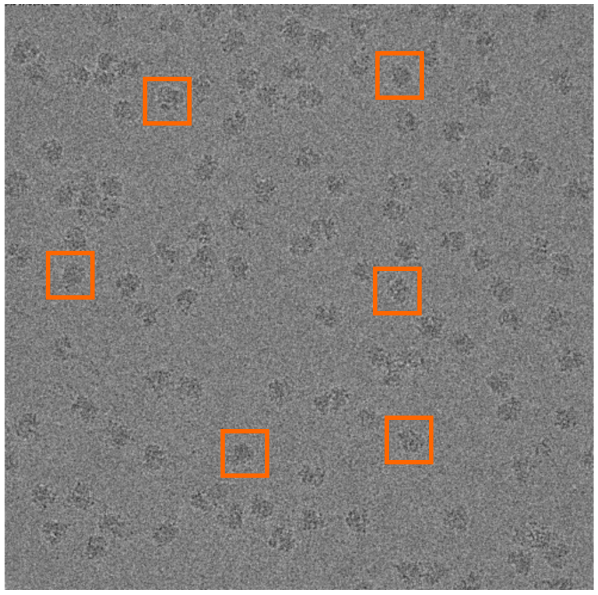
Projections 2D

après extraction



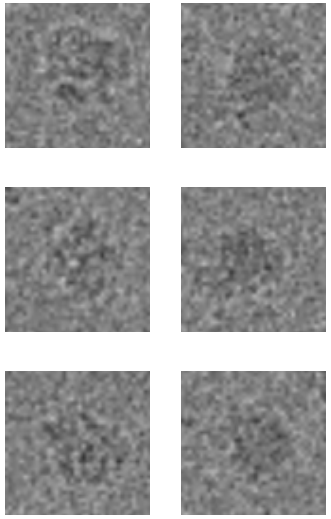
Reconstruction 3D

La chaîne de traitement en cryo-EM



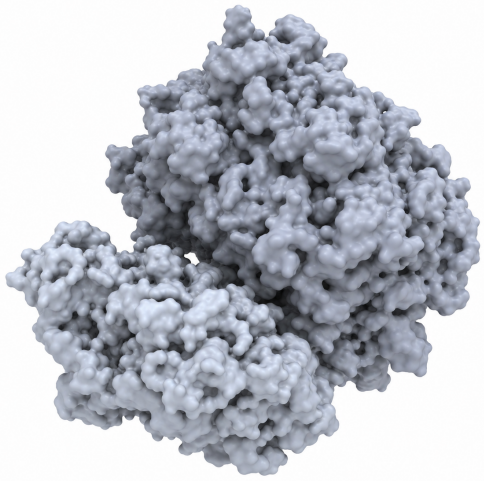
Micrographe

issu du microscope



Projections 2D

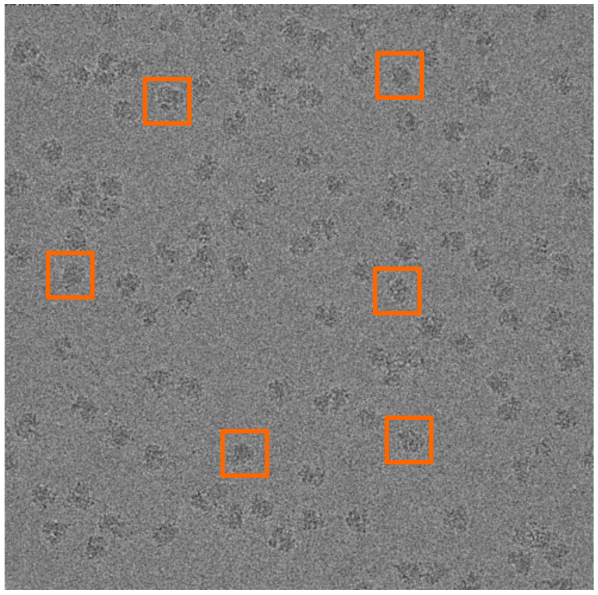
après extraction



Reconstruction 3D

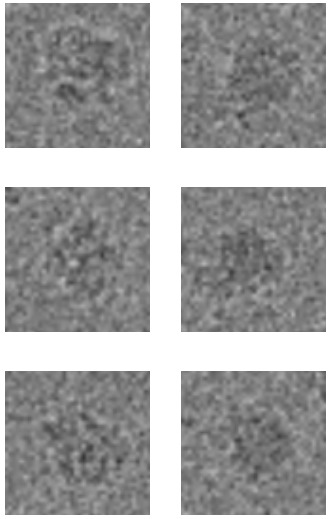
par l'opération du Saint-Esprit ?

La chaîne de traitement en cryo-EM



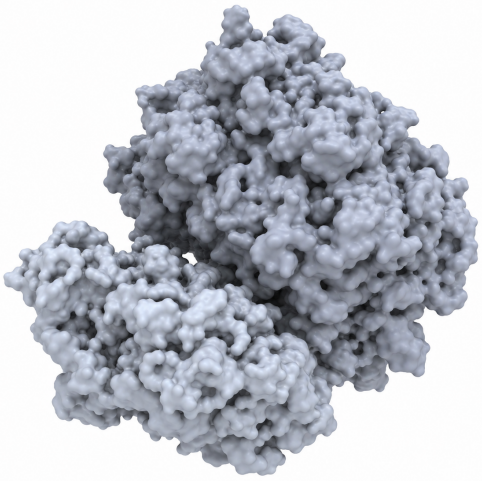
Micrographe

issu du microscope



Projections 2D

après extraction



Reconstruction 3D

par l'opération du Saint-Esprit ?

Nombre de projections

$n \sim 10^4$ à 10^6, voire plus

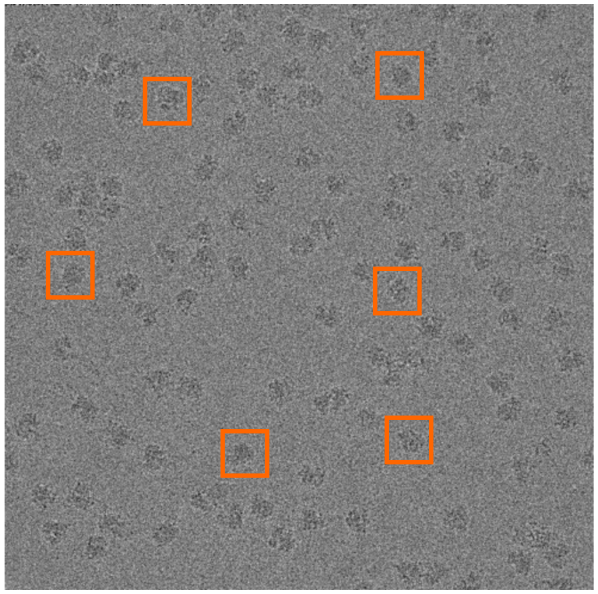
Taille des projections

64^2 à 512^2 pixels (≈ 1 Å/pixel)

Niveau de bruit

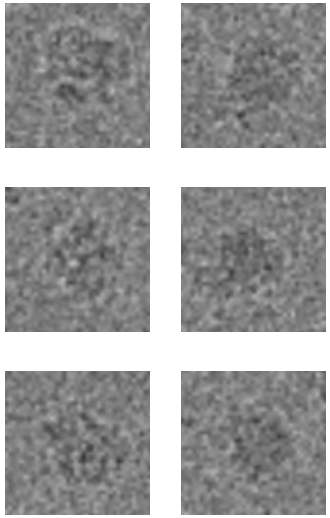
SNR $\approx 0{,}05$ (indicatif)

La chaîne de traitement en cryo-EM



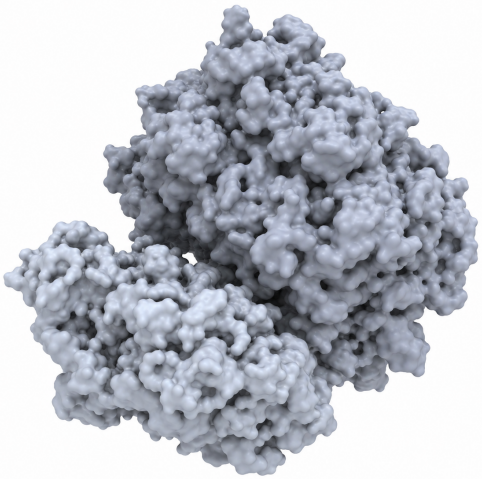
Micrographe

issu du microscope



Projections 2D

après extraction



Reconstruction 3D

par l'opération du Saint-Esprit ?

Nombre de projections

$n \sim 10^4$ à 10^6, voire plus

Taille des projections

64^2 à 512^2 pixels (≈ 1 Å/pixel)

Niveau de bruit

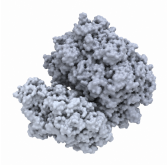
SNR $\approx 0{,}05$ (indicatif)

Méthodes à la pointe performantes si le bruit n'est pas trop élévé

But : repousser la limite de ce qui est actuellement possible

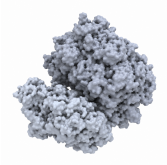
Modélisation de la formation des projections : illustration

Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$

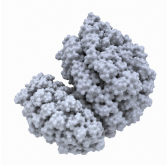


Modélisation de la formation des projections : illustration

Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$

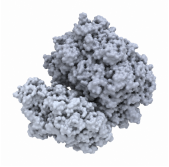


Rotation inconnue $R\,f$

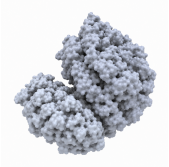


Modélisation de la formation des projections : illustration

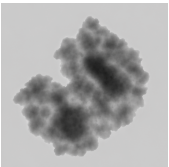
Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$



Rotation inconnue $R\,f$

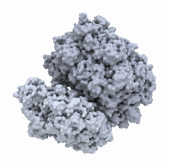


Projection 2D $\mathcal{P}(R\,f)$

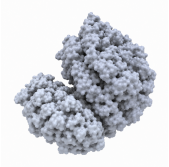


Modélisation de la formation des projections : illustration

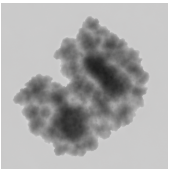
Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$



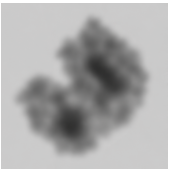
Rotation inconnue $R\,f$



Projection 2D $\mathcal{P}(R\,f)$

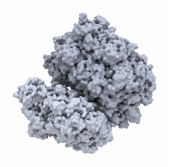


Convolution (PSF) $h * \mathcal{P}(R\,f)$

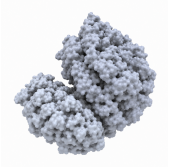


Modélisation de la formation des projections : illustration

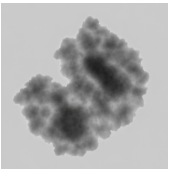
Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$



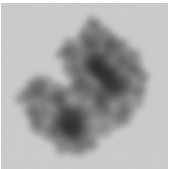
Rotation inconnue $R\,f$



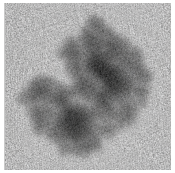
Projection 2D $\mathcal{P}(R\,f)$



Convolution (PSF) $h * \mathcal{P}(R\,f)$



Bruit (gaussien) $Y_i = \underbrace{(h * \mathcal{P}(R\,f))(\text{grille})}_{A_R f} + \sigma\varepsilon_i \in \mathbb{R}^{L^2}$



$\sigma > 0$ quantifie le niveau de bruit

Modélisation de la formation des projections : illustration

Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$

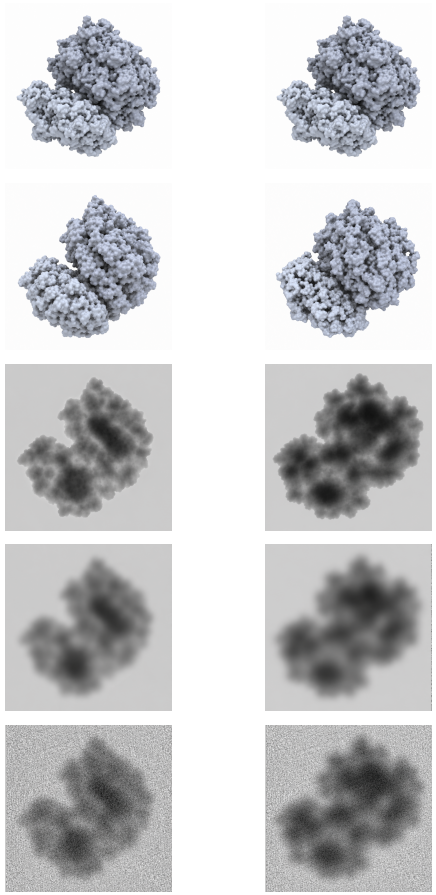
Rotation inconnue $R\,f$

Projection 2D $\mathcal{P}(R\,f)$

Convolution (PSF) $h * \mathcal{P}(R\,f)$

Bruit (gaussien) $Y_i = \underbrace{(h * \mathcal{P}(R\,f))(\text{grille})}_{A_R f} + \sigma\varepsilon_i \in \mathbb{R}^{L^2}$

$\sigma > 0$ quantifie le niveau de bruit



Modélisation de la formation des projections : illustration

Volume 3D $f : \mathbb{R}^3 \longrightarrow \mathbb{R}$

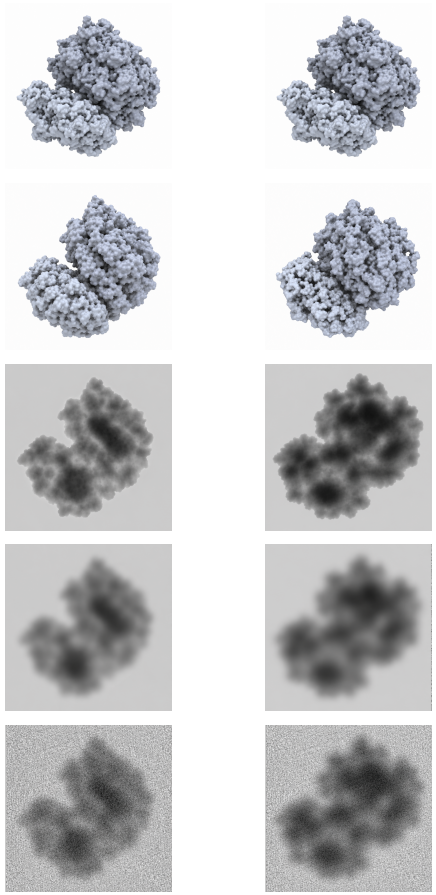
Rotation inconnue $R\,f$

Projection 2D $\mathcal{P}(R\,f)$

Convolution (PSF) $h * \mathcal{P}(R\,f)$

Bruit (gaussien) $Y_i = \underbrace{(h * \mathcal{P}(R\,f))(\text{grille})}_{A_R f} + \sigma\varepsilon_i \in \mathbb{R}^{L^2}$

$\sigma > 0$ quantifie le niveau de bruit



Modèle d'observation

Problème inverse linéaire avec variables **inconnues**

$$Y_i = A_{R_i} f + \sigma\varepsilon_i, \qquad i \in \{1, \ldots, n\}.$$

Que faire ?

Estimation conjointe (régularisée)

$$(\widehat{f}, \widehat{r}_1, \ldots, \widehat{r}_n) \in \underset{f,\, r_1, \ldots, r_n}{\arg\min} \left\{ \frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^{n} \| Y_i - A_{r_i} f \|^2 \; + \; \lambda \operatorname{Reg}(f) \right\}.$$

$\rightsquigarrow$ Limite statistique [2] : n rotations à reconstruire avec n données

[2] Singer, *Mathematics for cryo-electron microscopy*, Proc. ICM (2018), § E.

Que faire ?

Modélisation probabiliste pour les rotations inconnues

$$R_1, \dots, R_n \overset{\text{i.i.d.}}{\sim} \mu := \mathrm{Unif}(\mathrm{SO}_3)$$

Problème inverse linéaire avec variables **cachées/latentes**

$$Y_i = A_{R_i} f + \sigma \varepsilon_i, \qquad i \in \{1, \dots, n\}.$$

[2] Singer, *Mathematics for cryo-electron microscopy*, Proc. ICM (2018), § E.

Que faire ?

Modélisation probabiliste pour les rotations inconnues

$$R_1, \dots, R_n \overset{\text{i.i.d.}}{\sim} \mu := \mathrm{Unif}(\mathrm{SO}_3)$$

Problème inverse linéaire avec variables **cachées/latentes**

$$Y_i = A_{R_i} f + \sigma \varepsilon_i, \qquad i \in \{1, \dots, n\}.$$

Problème intrinsèquement difficile : combien de projections faut-il, à niveau de bruit σ donné, pour qu'un estimateur $\hat{f}$ de f satisfasse $\|\hat{f} - f\| \approx \varepsilon$?

au moins de l'ordre de $n \approx \sigma^2$...?

[2] Singer, *Mathematics for cryo-electron microscopy*, Proc. ICM (2018), § E.

Que faire ?

Modélisation probabiliste pour les rotations inconnues

$$R_1, \dots, R_n \overset{\text{i.i.d.}}{\sim} \mu := \mathrm{Unif}(\mathrm{SO}_3)$$

Problème inverse linéaire avec variables **cachées/latentes**

$$Y_i = A_{R_i} f + \sigma \varepsilon_i, \qquad i \in \{1, \dots, n\}.$$

Problème intrinsèquement difficile : combien de projections faut-il, à niveau de bruit σ donné, pour qu'un estimateur $\hat{f}$ de f satisfasse $\|\hat{f} - f\| \approx \varepsilon$?

au moins de l'ordre de $n \approx \sigma^6$, cf [3]

Conséquence :

$$\sigma \times 2 \implies n \times 64.$$

[2] Singer, *Mathematics for cryo-electron microscopy*, Proc. ICM (2018), § E.
[3] Bandeira et al., *Estimation under group actions: recovering orbits from invariants*, Appl. Comput. Harmon. Anal. 66, 236–319 (2023).

Estimateur par maximum de vraisemblance

Problème du maximum a posteriori [4]

$$\widehat{f} \in \arg\min_{f} \left\{ -\sum_{i=1}^{n} \log \int_{\mathrm{SO}_3} \exp\left(-\frac{\|Y_i - A_r f\|^2}{2\sigma^2} \right) \mathrm{d}\mu(r) \; + \; \lambda \, \mathrm{Reg}(f) \right\}$$

[4] Scheres, *RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination*, J. Struct. Biol. 180, 519–530 (2012).

Estimateur par maximum de vraisemblance

Problème du maximum a posteriori [4]

$$\widehat{f} \in \arg\min_{f} \left\{ -\sum_{i=1}^{n} \log \int_{\mathrm{SO}_3} \exp\left(-\frac{\|Y_i - A_r f\|^2}{2\sigma^2} \right) \mathrm{d}\mu(r) \; + \; \lambda \, \mathrm{Reg}(f) \right\}$$

Résolution par espérance-maximisation [5]

- **Étape E** :

$$w_i^{(k)}(r) := \exp\left(-\frac{\|Y_i - A_r f^{(k)}\|^2}{2\sigma^2} \right) \quad \text{normalisé}$$

- **Étape M** :

$$f^{(k+1)} \in \arg\min_{f} \left\{ \overbrace{\frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^{n} \int_{\mathrm{SO}_3} w_i^{(k)}(r) \|Y_i - A_r f\|^2 \, \mathrm{d}\mu(r)}^{\text{quadratique}} + \lambda \, \mathrm{Reg}(f) \right\}.$$

[4] Scheres, *RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination*, J. Struct. Biol. 180, 519–530 (2012).
[5] Sigworth, *A maximum-likelihood approach to single-particle image refinement*, J. Struct. Biol. 122, 328–339 (1998).

Algorithmes industriels

RELION [4], **cryoSPARC** [6] : reconstruction 3D à haute résolution de nombreux complexes

[4] Scheres, *RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination*, J. Struct. Biol. 180, 519–530 (2012).
[6] Punjani et al., *cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination*, Nat. Methods 14, 290–296 (2017).

État de l'art

Algorithmes industriels

RELION [4], **cryoSPARC** [6] : reconstruction 3D à haute résolution de nombreux complexes

Ingrédient principal : maximum a posteriori + espérance-maximisation

- ◇ Terme d'a priori/régularisation Reg pris **différentiable**, $\mathrm{Reg}(f) = \frac{1}{2}\|Lf\|^2$
- ◇ $\rightsquigarrow$ étape M explicite (annulation du gradient)

[4] Scheres, *RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination*, J. Struct. Biol. 180, 519–530 (2012).
[6] Punjani et al., *cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination*, Nat. Methods 14, 290–296 (2017).
[7] Wu et Lander, *How low can we go? Structure determination of small biological complexes using single-particle cryo-EM*, Curr. Opin. Struct. Biol. 64, 9–16 (2020).

État de l'art

Algorithmes industriels

RELION [4], **cryoSPARC** [6] : reconstruction 3D à haute résolution de nombreux complexes

Ingrédient principal : maximum a posteriori + espérance-maximisation

- ◇ Terme d'a priori/régularisation Reg pris **différentiable**, $\mathrm{Reg}(f) = \frac{1}{2}\|Lf\|^2$
- ◇ $\rightsquigarrow$ étape M explicite (annulation du gradient)

Limites actuelles

- ◇ **Petites molécules/fort niveau de bruit** : sélection et/ou reconstruction difficiles [7].

[4] Scheres, *RELION: Implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination*, J. Struct. Biol. 180, 519–530 (2012).
[6] Punjani et al., *cryoSPARC: algorithms for rapid unsupervised cryo-EM structure determination*, Nat. Methods 14, 290–296 (2017).
[7] Wu et Lander, *How low can we go? Structure determination of small biological complexes using single-particle cryo-EM*, Curr. Opin. Struct. Biol. 64, 9–16 (2020).

A priori plus évolués

Enrichir l'a priori en acceptant le non-lisse

$$\text{e.g.} \quad \mathrm{Reg}(f) = \mathsf{TV}(f).$$

A priori plus évolués

Enrichir l'a priori en acceptant le non-lisse

$$\text{e.g.} \quad \mathrm{Reg}(f) = \mathrm{TV}(f).$$

TV en cryo-EM : les travaux de l'équipe d'Unser

- ◇ **Zehni et al.** [8] : estimation conjointe de f et des rotations
- ◇ Gains sur simulations face à RELION, modérés dans le test le plus réaliste.

[8] Zehni, Donati, Soubies, Zhao et Unser, *Joint Angular Refinement and Reconstruction for Single-Particle Cryo-EM*, IEEE Trans. Image Process. 29, 6151–6163 (2020), § V-E.

A priori plus évolués

Enrichir l'a priori en acceptant le non-lisse

$$\text{e.g.} \quad \mathrm{Reg}(f) = \mathrm{TV}(f).$$

TV en cryo-EM : les travaux de l'équipe d'Unser

- ◇ **Zehni et al.** [8] : estimation conjointe de f et des rotations
- ◇ Gains sur simulations face à RELION, modérés dans le test le plus réaliste.

But : conjuguer a priori riche et garanties théoriques

- ◇ accepter l'optimisation non différentiable
- ◇ sans renoncer au maximum a posteriori et à l'espérance-maximisation
- ◇ ... temps de calcul rédhibitoire ?

[8] Zehni, Donati, Soubies, Zhao et Unser, *Joint Angular Refinement and Reconstruction for Single-Particle Cryo-EM*, IEEE Trans. Image Process. 29, 6151–6163 (2020), § V-E.

Étape M :

$$f^{(k+1)} \in \arg\min_{f} \left\{ \frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^{n} \int_{\mathrm{SO}_3} w_i^{(k)}(r) \| Y_i - A_r f \|^2 \, \mathrm{d}\mu(r) \; + \; \lambda \, \mathrm{Reg}(f) \right\}.$$

Étape M :

$$f^{(k+1)} \in \arg\min_{f} \left\{ \frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^{n} \int_{\mathrm{SO}_3} w_i^{(k)}(r) \| Y_i - A_r f \|^2 \, \mathrm{d}\mu(r) \; + \; \lambda \, \mathrm{Reg}(f) \right\}.$$

Hypothèse :

$$\mathrm{Reg}(f) = h(Lf), \qquad \mathrm{prox}(h) \text{ accessible}$$

$\rightsquigarrow$ couvre la TV

Étape M :

$$f^{(k+1)} \in \arg\min_{f} \left\{ \frac{1}{2\sigma^2} \sum_{i=1}^{n} \int_{\mathrm{SO}_3} w_i^{(k)}(r) \| Y_i - A_r f \|^2 \, \mathrm{d}\mu(r) \; + \; \lambda \, \mathrm{Reg}(f) \right\}.$$

Hypothèse :

$$\mathrm{Reg}(f) = h(Lf), \qquad \mathrm{prox}(h) \text{ accessible}$$

$\rightsquigarrow$ couvre la TV

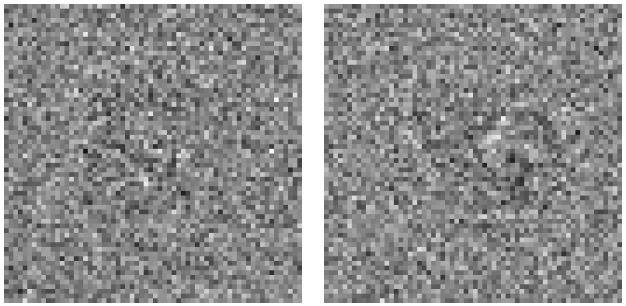
Solution algorithmique retenue :

- ◇ Algorithme de Condat–Vũ [9], [10]
- ◇ Conservation de la structure convolutionnelle pour les calculs de type $A^* A f$
  $\rightsquigarrow$ permet de passer de $O(dL^5)$ à $O(L^3 \ln(L))$

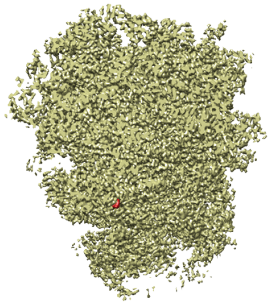
[9] Condat, J. Optim. Theory Appl. 158, 460–479 (2013) : décomposition primale–duale pour l'optimisation convexe.
[10] Vũ, Adv. Comput. Math. 38, 667–681 (2013) : décomposition pour les inclusions monotones duales.

Résultats (données synthétiques)

2 projections parmi $n = 10^4$, $L = 64$



Volume cible



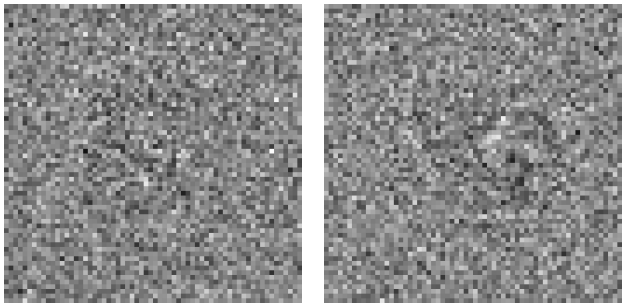
Ribosome 80S de
Plasmodium falciparum

EMD-2660 [11]

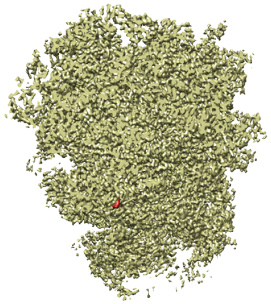
[11] Wong et al., *Cryo-EM structure of the Plasmodium falciparum 80S ribosome bound to the anti-protozoan drug emetine*, eLife 3, e03080 (2014). Volume et vue : EMDB, EMD-2660.

Résultats (données synthétiques)

2 projections parmi $n = 10^4$, $L = 64$



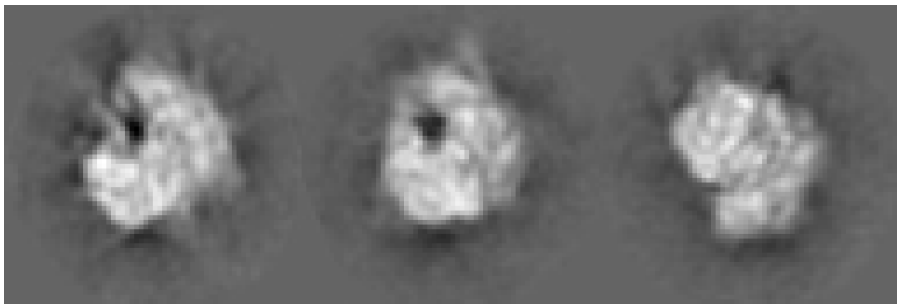
Volume cible



Ribosome 80S de
Plasmodium falciparum

EMD-2660 [11]

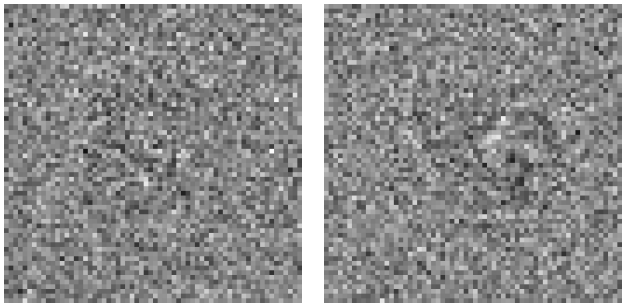
RELION — ab initio



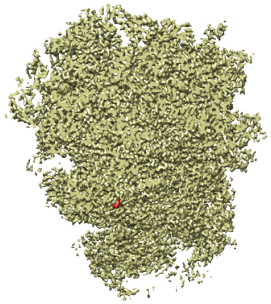
[11] Wong et al., *Cryo-EM structure of the Plasmodium falciparum 80S ribosome bound to the anti-protozoan drug emetine*, eLife 3, e03080 (2014). Volume et vue : EMDB, EMD-2660.

Résultats (données synthétiques)

2 projections parmi $n = 10^4$, $L = 64$



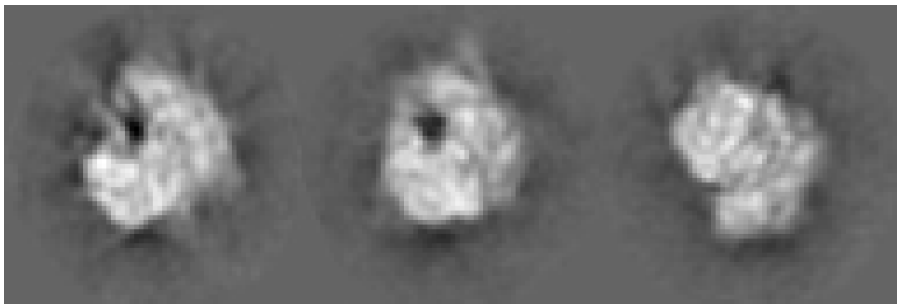
Volume cible



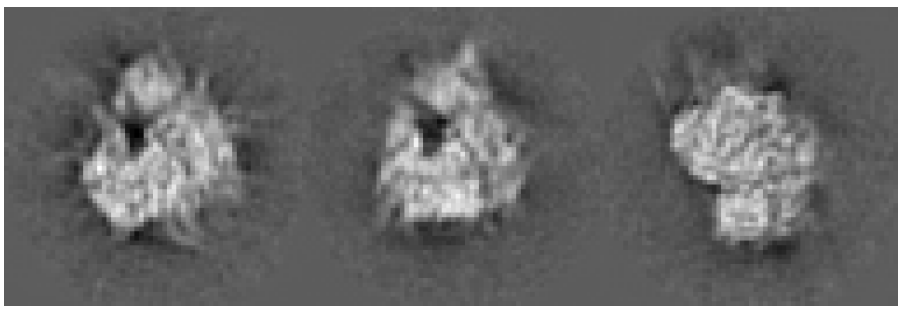
Ribosome 80S de
Plasmodium falciparum

EMD-2660 [11]

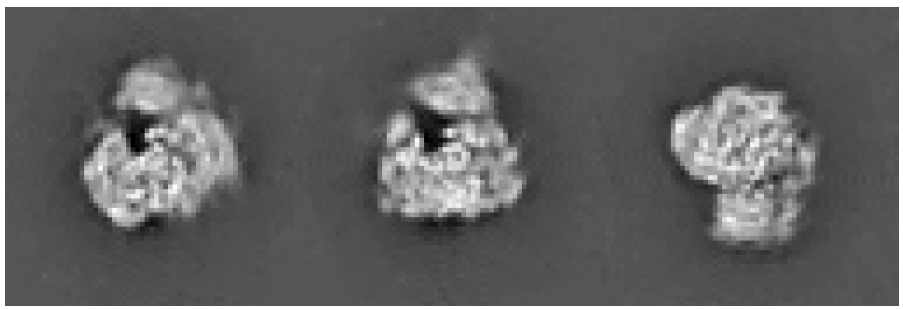
RELION — ab initio



RELION puis raffinement



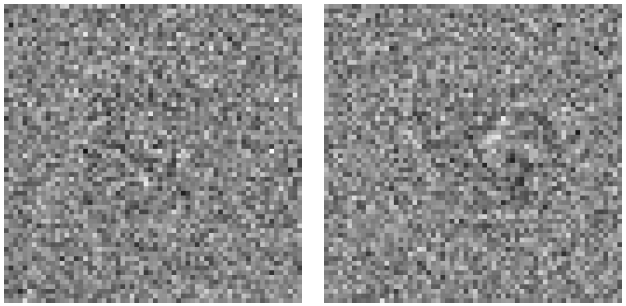
TV puis raffinement



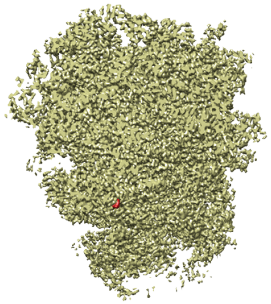
[11] Wong et al., *Cryo-EM structure of the Plasmodium falciparum 80S ribosome bound to the anti-protozoan drug emetine*, eLife 3, e03080 (2014). Volume et vue : EMDB, EMD-2660.

Résultats (données synthétiques)

2 projections parmi $n = 10^4$, $L = 64$



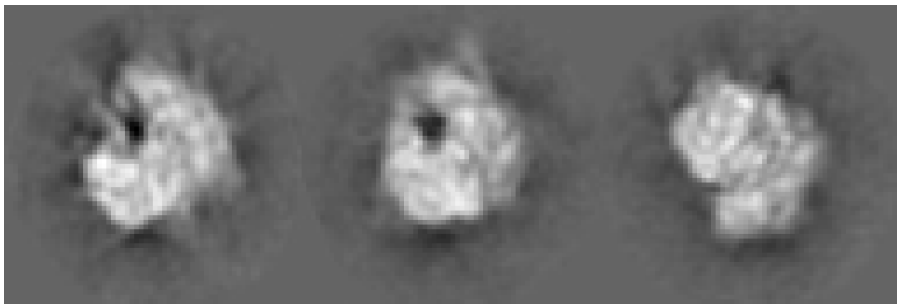
Volume cible



Ribosome 80S de
Plasmodium falciparum

EMD-2660 [11]

RELION — ab initio



À n fixé, reconstruction satisfaisante à niveau de bruit $\approx 1.3\times$ plus élevé

[11] Wong et al., *Cryo-EM structure of the Plasmodium falciparum 80S ribosome bound to the anti-protozoan drug emetine*, eLife 3, e03080 (2014). Volume et vue : EMDB, EMD-2660.

Perspectives

Non-differentiable regularisers for cryo-EM refinement under heavy noise

Rémy Abergel, Sylvain Durand, Camille Pouchol, Raphaël Stussi

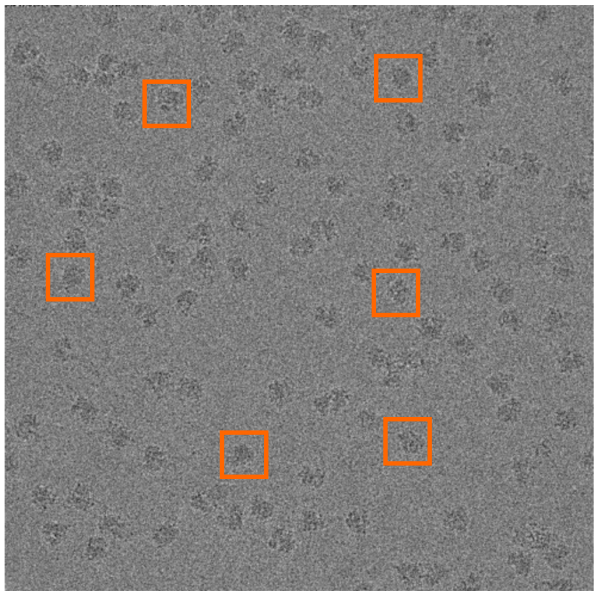
Article en préparation

Perspectives

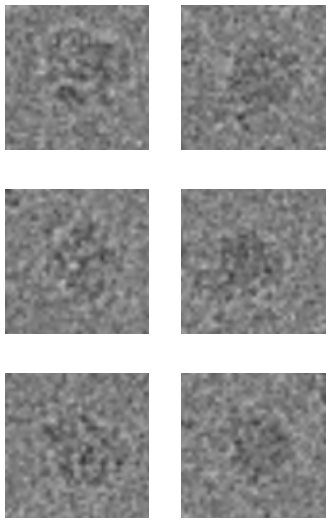
Non-differentiable regularisers for cryo-EM refinement under heavy noise

Rémy Abergel, Sylvain Durand, Camille Pouchol, Raphaël Stussi

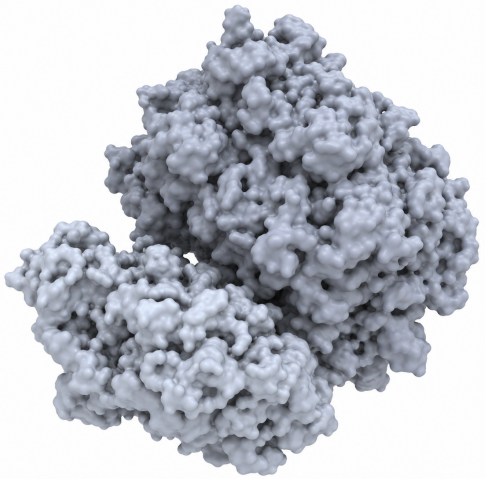
Article en préparation



Micrographe



Projections 2D



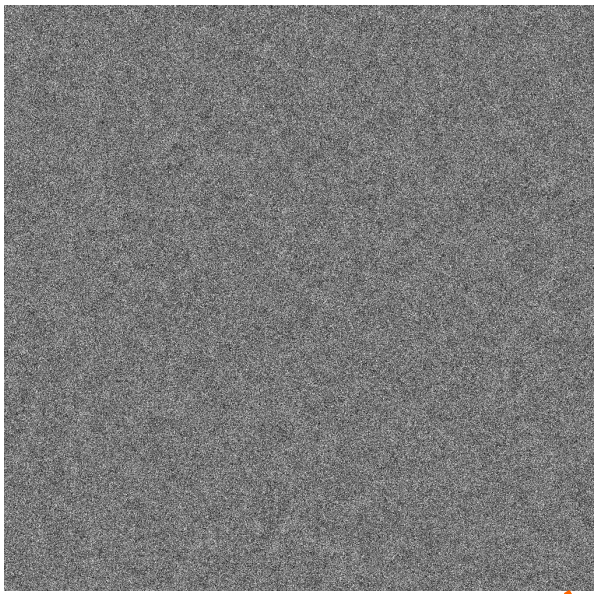
Reconstruction 3D

Perspectives

Non-differentiable regularisers for cryo-EM refinement under heavy noise

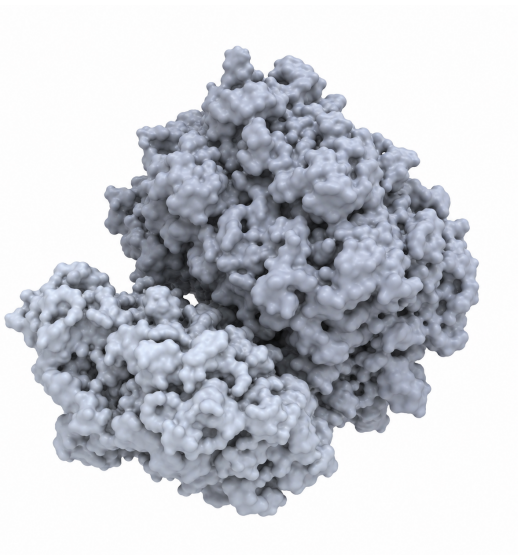
Rémy Abergel, Sylvain Durand, Camille Pouchol, Raphaël Stussi

Article en préparation



Micrographe





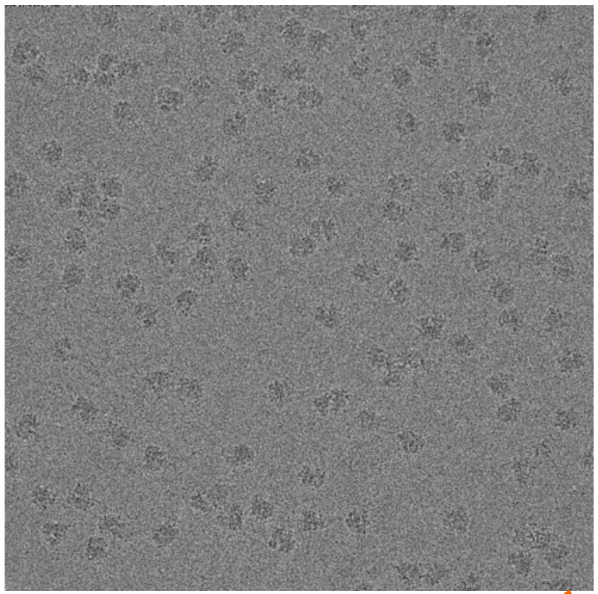
Reconstruction 3D

Perspectives

Non-differentiable regularisers for cryo-EM refinement under heavy noise

Rémy Abergel, Sylvain Durand, Camille Pouchol, Raphaël Stussi

Article en préparation



Micrographe



?

Reconstruction 3D

Concluons

