

MÁSTER EN NUEVAS TECNOLOGÍAS ELECTRÓNICAS Y FOTÓNICAS

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER - CURSO 2026-2027

PROPUESTA

Título:	<i>Análisis local de la pérdida de señal dependiente de la dosis en datos de cryo-EM</i>
Título en inglés:	<i>Local analysis of dose-dependent signal decay in cryo-EM data</i>
Tutor/es:	Javier Vargas, Javier Chichón
Correos-e:	Javier.vargas@cnb.csic.es ; fjchichon@cnb.csic.es
Lugar de realización:	Centro Nacional de Biotecnología-CSIC

Resumen:

La microscopía electrónica criogénica (cryo-EM) permite determinar estructuras de macromoléculas biológicas, como proteínas o virus, con resolución atómica. Durante la adquisición de los datos en el microscopio electrónico, cada imagen se registra como una secuencia de *frames* que acumulan progresivamente dosis de electrones. Esta irradiación provoca daño en la muestra y una pérdida de información que afecta especialmente a las altas resoluciones. Para reducir este efecto en las reconstrucciones 3D, los programas actuales aplican esquemas de *dose weighting* que asignan diferentes pesos a los distintos *frames* y frecuencias espaciales.

Estos esquemas se basan habitualmente en un modelo genérico de pérdida de señal, que se aplica de forma similar a distintas muestras y a todas las partículas de un conjunto de datos [1]. Sin embargo, se sabe que diferentes macromoléculas pueden presentar distintos patrones de daño por radiación y es posible que condiciones locales, como el espesor del hielo, hagan que la señal no se degrade exactamente de la misma manera en todas las partículas.

El objetivo de este trabajo será desarrollar y evaluar una metodología específica para cada conjunto de datos que permita medir localmente cómo cambia la señal a lo largo de los *frames* de una película de cryo-EM y en diferentes rangos de resolución. Para ello se utilizarán herramientas de procesamiento de imagen, con especial énfasis en métodos que permitan obtener de forma robusta la amplitud local de la señal para distintas frecuencias espaciales, como la transformada espiral o transformada de Hilbert 2D.

El proyecto tendrá un carácter principalmente metodológico y exploratorio. Tras analizar los métodos existentes, se desarrollará una metodología para estudiar la pérdida de señal sin imponer un modelo previo de decaimiento ni depender de una muestra concreta. Se analizará si existen diferencias reproducibles en la pérdida de señal entre distintas muestras, partículas o regiones de una misma muestra y, en caso afirmativo, si estas diferencias pueden utilizarse para desarrollar estrategias de *dose weighting* adaptativas y específicas de cada conjunto de datos.

Metodología:

La metodología del trabajo se organizará en varias etapas. En primer lugar, se realizará un breve estudio teórico del daño por radiación en cryo-EM, incluyendo los principales mecanismos físicos y químicos que producen la degradación de la muestra durante la exposición al haz de electrones y su efecto sobre la pérdida de

información a diferentes frecuencias espaciales. También se revisarán los principales métodos existentes para caracterizar y compensar este efecto, prestando especial atención al método de *dose weighting* propuesto por Grant y Grigorieff [1] y a estrategias posteriores, como las incorporadas en los métodos de *particle polishing* desarrollados por Scheres y colaboradores [2].

En una segunda etapa se implementará en Python una versión 2D de la transformada espiral, que permitirá estimar de forma local la amplitud de la señal en diferentes bandas de frecuencia espacial. Esta herramienta se aplicará a los distintos *frames* de películas de cryo-EM con el objetivo de estudiar cómo evoluciona la amplitud local de la señal a medida que aumenta la dosis acumulada.

El análisis se realizará tanto en regiones correspondientes al hielo como en regiones que contengan partículas, y se evaluará la influencia de diferentes condiciones experimentales y características locales de la muestra. Se estudiarán varios conjuntos de datos con el objetivo de determinar si el comportamiento observado es reproducible y si existen diferencias significativas entre distintas muestras, partículas o regiones de una misma micrografía. Las curvas de pérdida de señal obtenidas se compararán con los resultados y modelos descritos en el trabajo de Grant y Grigorieff [1].

Como extensión del trabajo, y en función de los resultados obtenidos, se explorará la posibilidad de desarrollar un esquema de *dose weighting* específico para cada conjunto de datos basado en las medidas locales de pérdida de señal obtenidas con la metodología propuesta.

Conocimientos previos recomendados:

Conocimientos previos de Python, interés en procesamiento de imagen y motivación por adquirir experiencia en investigación en un entorno distinto al universitario.

Idealmente, el estudiante tendría interés en continuar posteriormente con una tesis doctoral si le interesa la temática.

Bibliografía:

[1] Grant, T. & Grigorieff, N. Measuring the optimal exposure for single particle cryo-EM using a 2.6 Å reconstruction of rotavirus VP6. eLife 4, e06980 (2015).
<https://doi.org/10.7554/eLife.06980>

[2] Scheres, S. H. W. Beam-induced motion correction for sub-megadalton cryo-EM particles. eLife 3, e03665 (2014). <https://doi.org/10.7554/eLife.03665>

[3] Zivanov, J. et al. A Bayesian approach to beam-induced motion correction in cryo-EM single-particle analysis. IUCrJ 6, 5–17 (2019).

[4] Heymann, J. B. The progressive spectral signal-to-noise ratio of cryo-electron micrograph movies as a tool to assess quality and radiation damage. Computer Methods and Programs in Biomedicine 220, 106799 (2022).
<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2022.106799>

[5] Karuppasamy, M., Karimi Nejadasl, F., Vulovic, M., Koster, A. J. & Ravelli, R. B. G. Radiation damage in single-particle cryo-electron microscopy: effects of dose and dose rate. Journal of Synchrotron Radiation 18, 398–412 (2011).