

Affiche 72**Nouvelle approche de visualisation et tri des diffractogrammes de cryo-MET basé sur l'anisotropie**

S. Jonić¹, C. O. Sorzano², M. Cottevieille¹, E. Larquet¹ et N. Boisset¹

¹Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Université P et M Curie, UMR 7590, CNRS, 140 rue de Lourmel, 75015 Paris, France, ²Escuela Politécnica Superior, Univ. San Pablo – CEU, Campus Urb. Montepríncipe s/n, 28668 Boadilla del Monte, Madrid, Spain

Dans le contexte de l'automatisation de la cryo-microscopie électronique (cryo-MET), nous avons développé une nouvelle méthode améliorant de la visibilité des anneaux de diffraction de micrographies de l'eau vitreuse, et ce, sans utilisation de film de carbone ou de hautes concentrations de protéines. Nous avons utilisé ces spectres améliorés pour détecter les micrographies et/ou leurs régions locales qui doivent être rejetées avant la reconstruction 3D. Par exemple, les diffractogrammes présentant des imperfections (dérive thermique, ou effet de charge, ou absence d'anneaux de diffraction) correspondent à des images introduisant des défauts dans la reconstruction 3D globale. Notre méthode peut également être utilisée pour détecter les micrographies/régions très astigmatiques. Elles doivent aussi être rejetées si les algorithmes de traitement d'images employés ne corrigent pas celui-ci. Notre méthode est simple et rapide car elle utilise la corrélation croisée normalisée entre les spectres de puissance de visibilité améliorée et leurs copies tournées de 90 degrés. Cette mesure de corrélation est très efficace grâce à l'amélioration de la visibilité d'anneaux de diffraction qui simplifie aussi l'interprétation des résultats du classement des micrographies/régions. Nous avons montré que notre algorithme peut améliorer la visibilité d'anneaux de diffraction de l'eau pure. Aussi, nous avons montré que cette visibilité dépend beaucoup de l'épaisseur de la glace. Cet algorithme a été incorporé dans Xmipp (open-source) mais il est aussi disponible pour d'autres environnements.

Affiche 73**Synthèse et étude structurale de l'hepcidine, un régulateur majeur du métabolisme du fer**

L. Khemtémourian¹, N. Desbenoit¹, M.-A. Sari¹, I. Artaud¹ et S. Vaultont²

¹Laboratoire de Chimie et Biochimie Toxicologiques et Pharmacologiques UMR8601, CNRS- Univ. René Descartes, 45 rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cedex, ²Institut Cochin, Département de Génétique, Développement et Pathologie Moléculaire INSERM, U567, UMR8104, 24 rue du Faubourg St Jacques, 75014 Paris

L'hepcidine, peptide antimicrobien de 25 résidus, est un des acteurs clé impliqué dans l'homéostasie du fer¹. Le but de nos travaux est d'améliorer la compréhension des mécanismes moléculaires d'action de l'hepcidine dans le contrôle de cette homéostasie. Un des verrous à toute étude est l'obtention de ce peptide qui est actuellement produit en faible quantité. Nous avons donc choisi d'élaborer une nouvelle voie de synthèse peptidique de l'hepcidine puis entrepris une étude structurale par DC, IR et RMN.

La grande particularité de l'hepcidine est qu'elle possède huit résidus cystéines tous impliqués dans des ponts disulfures. La synthèse sélective des différents ponts a nécessité le développement d'un protocole particulier, qui porte principalement i) sur le choix des groupements protecteurs des cystéines permettant des clivages sélectifs deux à deux et l'oxydation concomitante des cystéines libres en disulfure, ii) les temps de couplage et iii) le suivi des réactions. La synthèse a été réalisée en phase solide en chimie Fmoc avec différents activateurs et différentes résines. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la résine Rink Amide en utilisant comme activateurs HOBt/HBTU. Le choix de nos différents groupements protecteurs pour les cystéines (trt, AcM, *t*-bu et *p*MB) permet la formation sélective des ponts disulfures qui est suivie par spectrométrie de masse et par dosage des fonctions thiols libres.

Récemment, ce peptide a été synthétisé sur un synthétiseur micro-onde, procédé qui a permis d'améliorer les rendements de synthèse de l'ordre de 15%.

Les études structurales en solution sont en cours de réalisation.

1. C. Beaumont *et al.* (2003), *Hématologie*, 9 :27-36.