Microscopies moléculaires des complexes nucléoprotéiques

Christophe Lavelle^(1,2) (lavelle@mnhn.fr), Olivier Piétrement⁽¹⁾ (olivier.pietrement@igr.fr) et Éric Le Cam⁽¹⁾ (elecaml@igr.fr).

(1) Laboratoire de Microscopie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 8126, Institut Gustave Roussy et Université Paris-Sud, 94805 Villejuif.

(2) Régulation et Dynamique des Génomes, CNRS UMR 7196 / INSERM U565, Muséum national d'histoire naturelle, 75005 Paris.

L'information génétique est portée dans chacune de nos cellules par environ deux mètres d'ADN enroulés au sein de larges assemblages macromoléculaires qui forment les chromosomes.

Les microscopies moléculaires, électronique en transmission (TEM) et à force atomique (AFM), donnent accès à la résolution spatiale nécessaire pour imager et décrypter les mécanismes impliqués dans les grandes voies de régulation de la réparation, de la recombinaison, de la transcription et de la réplication du matériel génétique.

Nous présentons ici quelques exemples de visualisation de machineries protéiques associées aux acides nucléiques.

Par convention, les images en tons gris sont obtenues par TEM, tandis que les images en tons orangés sont obtenues par AFM.

Les mots en italiques – et en gras lors de leur première occurrence dans le texte – renvoient au glossaire situé en fin d'article.

Les microscopies moléculaires (encadré p. 14) permettent de caractériser en haute résolution la structure et la dynamique de complexes nucléoprotéiques – constitués d'acide nucléique et de protéines –, et ce pour des tailles d'ADN très variées (typiquement de quelques dizaines à quelques milliers de paires de bases). Depuis de nombreuses années, la microscopie électronique en transmission permet d'obtenir des résolutions nanométriques. La microscopie à force atomique, technique plus récente, donne accès à d'excellentes résolutions spatiales (de l'ordre du nm) et temporelles (jusqu'à quelques dizaines de ms) à l'échelle de la molécule unique, potentiellement en milieu liquide.

Nous développons au laboratoire principalement deux axes de recherche centrés sur les acides nucléiques, à savoir leur utilisation technologique (potentialités offertes en nanosciences) et l'étude de leur fonction physiologique. Le premier aspect concerne des domaines aussi divers que la caractérisation de nanoparticules, l'assemblage et/ou l'adressage de nano-objets fonctionnels, la formation d'édifices supramoléculaires bi et tridimensionnels (à base d'ADN, mais aussi structures hybrides avec nanotubes de carbone), le transport électronique dans l'ADN et le câblage de composants électroniques. Le deuxième aspect a pour objectif la caractérisation des propriétés structurales intrinsèques de l'ADN (courbure, torsion, flexibilité, conformation 3D) jusqu'à l'architecture des chromosomes, en passant par les mécanismes enzymatiques impliqués dans la *réparation*, la *recombinaison*, la *réplication* ou la *transcription* de l'ADN. C'est sur ces derniers aspects biologiques que nous allons nous focaliser, en traitant notamment l'organisation et la régulation

du génome qui sont des sujets de plus en plus développés à l'interface physique/biologie.

De nombreux complexes impliquant des protéines ayant un rôle architectural (courbure, surenroulement, condensation de l'ADN) ou enzymatique (ouverture, coupure, relaxation, transcription, réplication de l'ADN) ont été étudiés dans notre laboratoire, qu'ils soient d'origine *procarvate* ou *eucaryote*. Pour illustrer l'apport spécifique de l'imagerie moléculaire, quelques exemples seront décrits ici, notamment l'organisation de la *chromatine* eucaryote (fig. 1), la dynamique de cette *chromatine* (fig. 2), les complexes nucléoprotéiques formés sur ADN simple brin (fig. 3) et les surprenantes propriétés de l'ARN (fig. 4).

La chromatine eucaryote

Les 46 chromosomes enfermés dans le noyau de nos cellules sont constitués chacun d'une pelote de *chromatine*. Déroulés et mis bout à bout, les fragments d'ADN contenus dans une cellule s'étireraient sur deux mètres, alors que le diamètre du noyau est de l'ordre de 10 μm . On comprend donc la nécessité de compacter le matériel génétique, tout en permettant son accès séquentiel (assuré notamment par les « facteurs de remodelage » décrits au paragraphe suivant), afin de permettre sa *réplication*, la *transcription* des gènes et la *réparation* des cassures accidentelles survenant au cours du cycle cellulaire. La figure 1 présente une série de portraits de fibres de *chromatine* : fibre native (fig. 1a), fibres reconstituées (fig. 1b-c), scénario de formation d'un *nucléosome* (fig. 1d-g) et vue multi-échelle d'un chromosome humain (fig. 1h-k). On notera sur ces images (comme sur toutes les images d'ADN en TEM présentées

>>>

L'étude structurale de la chromatine, porteuse de notre information génétique, se fait à différentes échelles, notamment grâce à :

- (1) la microscopie de fluorescence pour observer les chromosomes (résolution ~ 200 nm),
- (2) la microscopie électronique, pour examiner la fibre de chromatine déroulée (résolution ~ 2 nm), et
- (3) la diffraction de rayons X, pour déterminer la structure de son composant élémentaire, le nucléosome, à l'échelle atomique (résolution $\sim 0,2$ nm).

1. La chromatine eucaryote.

(a) Fibre de chromatine extraite d'ovaires de hamster chinois ; on voit très distinctement les nucléosomes (chacun séquestrant environ 150 paires de bases d'ADN) reliés entre eux par un brin d'ADN nu d'environ 50 paires de bases (appelé ADN de liaison) ; barre d'échelle 100 nm.

(b, c) Chromatine « artificielle » reconstituée *in vitro* en assemblant un **plasmide** nu avec des **histones** purifiées ; barre d'échelle 50 nm.

(d-g) Formation séquentielle d'un nucléosome : l'ADN nu (d) reçoit d'abord la partie centrale du nucléosome (2 histones H3 + 2 histones H4) formant une structure en « fer à cheval » (e), sur laquelle vient se greffer le reste des histones (2 histones H2A + 2 histones H2B) pour former le nucléosome final (f) ; éventuellement, une neuvième histone (H1, aussi appelée histone de liaison) vient sceller les ADN entrant et sortant du nucléosome (g) ; barre d'échelle 10 nm.

(h-k) Afin d'imager les divers états de compaction de l'ADN (de l'ADN nu jusqu'au chromosome mitotique), on utilise classiquement plusieurs sortes de microscopes (optique, électronique) pour couvrir une large gamme de grossissements, chaque microscopie impliquant alors des préparations spéciales. L'AFM permet aujourd'hui l'analyse aux différentes échelles dans la continuité et sans coloration spécifique et ce, directement en solution. On voit donc ici un étalement de chromosomes d'une cellule humaine (h ; largeur de l'image 50 μm), à partir duquel on fait un zoom sur un chromosome particulier (i ; largeur de l'image 7 μm) puis, après exposition en sel pour déployer les chromosomes, sur une boucle de chromatine à la bordure d'un chromosome (j ; largeur de l'image 2 μm) et, enfin, sur un nucléosome unique (k ; largeur de l'image 100 nm).

► Éclairer un échantillon avec des électrons, ou le sonder avec une pointe

La **microscopie électronique en transmission (TEM)**, fondée sur un contraste d'origine électronique, permet d'étudier une grande variété de particules isolées (virus, ADN, protéines ou divers complexes biologiques macromoléculaires), avec une résolution spatiale de quelques angströms à quelques nanomètres [1]. Les molécules, contrastées par un agent dense aux électrons (acétate d'uranyl par exemple), sont immobilisées sur une grille carbonée de faible épaisseur (quelques nanomètres), et l'observation se fait dans une colonne optique électronique sous vide (fig. a). Les images sont formées sur un écran phosphorescent, un film photographique ou une caméra numérique, et résultent de la perméabilité différentielle aux électrons des composants de l'échantillon. Des lentilles magnétiques guident les électrons entre la source et l'écran. Dans le cas particulier de l'ADN ou des complexes nucléoprotéiques, les grilles sont placées sous tension dans un plasma de pentylamine permettant un dépôt de charges positives sur le carbone, afin de favoriser l'adsorption et l'étalement des molécules d'ADN, chargées négativement.

Zeiss 902

L'**imagerie à force atomique (AFM)** n'est pas fondée sur les lois de l'optique visible ou électronique : elle fait partie de la grande famille des microscopies en champ proche [2]. Le contraste est ici d'origine mécanique : une pointe de dimension nanométrique, couplée à un microlevier faisant office de ressort, sonde mécaniquement la surface de l'échantillon, constitué d'une feuille de **mica** fraîchement clivée sur laquelle sont adsorbées les molécules étudiées (fig. b). L'échantillon est déplacé en x/y pour assurer le *scan*, tandis que sa position en z est asservie à la déflexion de la pointe. La technique présente deux avantages particulièrement intéressants par rapport à la TEM : d'une part, elle est capable de donner une représentation topographique des molécules (résolution verticale de quelques angströms) ; d'autre part, l'observation peut être faite soit à l'air après séchage, soit en milieu liquide sans figer ni sécher les molécules adsorbées sur la surface.

Veeco Nanoscope III

>>>

ensuite) l'aspect « pointillé » de l'ADN (particulièrement visible à fort grossissement, comme sur la fig. 1d), dû à la fixation de *clusters* d'acétate d'uranyl (agent contrastant couramment utilisé en **coloration positive**) dans le grand sillon de l'ADN.

Le remodelage de la chromatine

La *chromatine* est constamment remaniée par des « facteurs de remodelage », larges complexes enzymatiques qui utilisent l'énergie de l'**ATP** pour déstabiliser les *nudéosomes* et ainsi donner transitoirement accès à l'ADN qui y était séquestré (fig. 2). Différents modes d'action semblent exister ; c'est ainsi que nous avons récemment mis en évidence que Rad51, une protéine connue pour son rôle dans la *recombinaison* (cf. ci-dessous), était capable, du fait de sa capacité à polymériser le long de l'ADN, de déplacer les *nudéosomes* qui se trouvent sur son chemin (fig. 2e-h) [3].

Réparation, recombinaison et ADN simple brin

L'intégrité du matériel génétique présent dans toute la cellule vivante est continuellement remise en cause par une variété d'agents génotoxiques d'origine exogène (rayonnements solaires ou ionisants, cancérogènes chimiques, médicaments, polluants) ou endogène (instabilité chimique des bases, radicaux libres) qui génèrent des dommages sur l'ADN. La *recombinaison* homologue, qui utilise une séquence d'ADN identique à la séquence endommagée comme matrice pour la *réparation*, joue un rôle central dans le maintien de l'intégrité du génome, à la fois chez les *eucaryotes* et les *procaryotes*, en permettant la réparation des cassures simple ou double brins, et en rétablissant la synthèse de l'ADN après blocage accidentel de la *réplication* par des lésions sur l'ADN. La première étape de ce processus repose sur la formation d'un filament nucléoprotéique établi par la polymérisation de la protéine Rad51 sur les extrémités cassées de l'ADN (fig. 3a), filament qui va ensuite diffuser dans le noyau à la recherche d'une séquence homologue pour en recopier le message génétique non endommagé. Cependant, ce processus risque d'être toxique par les remaniements chromosomiques qu'il pourrait produire et qui sont potentiellement nuisibles à la cellule. La *recombinaison* nécessite donc un mécanisme de contrôle susceptible de la bloquer en cas de dérout-

>>>

2. Remodelage de la chromatine.

(a-c) Le facteur de remodelage RSC est capable de dérouler une partie de l'ADN séquestrée autour d'un nucléosome et de laisser la séquence en question dans un état transitoirement accessible ; barre d'échelle 20 nm.

(d) Lorsque la protéine Rad51 est incubée en présence d'un plasmide, la formation du nucléofilament sur l'ADN finit par être stoppée par le couple qu'exercent les contraintes de surenroulement dans la partie non encore couverte du plasmide, contraintes visibles par le très fort entortillement de cet ADN nu (flèche blanche) ; barre d'échelle 200 nm.

(e-h) Lorsque le filament Rad51 rencontre un nucléosome, lors de sa progression sur l'ADN, il pousse ce dernier (jusqu'à l'éjecter en dehors du fragment si une extrémité libre est présente, comme c'est le cas dans cette expérience) ; l'épaississement visible de l'ADN correspond aux endroits où Rad51 vient couvrir celui-ci, et son allongement progressif observable de e à h résulte de son étirement par Rad51 et de l'éjection du nucléosome (en h), qui libère les 150 paires de bases qui y étaient séquestrées (et qui se retrouvent elles aussi couvertes de Rad51) ; barre d'échelle 50 nm.

(i, j) Zooms sur la superhélice droite formée par le nucléofilament Rad51-ADN, vu en TEM (i ; image obtenue en **coloration négative**) ou AFM (j ; utilisation d'un rendu 3D).

3. Complexes nucléoprotéiques formés sur l'ADN simple brin.

(a-d) Un plasmide simple brin, incubé en présence de Rad51, est totalement couvert par la protéine et forme un nucléofilament (a), qui est déstabilisé par l'ajout de Srs2 (b) jusqu'à sa destruction totale après une incubation de 10 minutes (c) ; l'ajout de gp32 permet le redéploiement partiel du plasmide (d) ; barre d'échelle 100 nm.

(e) Un plasmide simple brin extrait de la bactérie *E. Coli*, incubé en présence de SSB, est couvert par la protéine à des degrés divers (en encart, rendu 3D – à l'échelle 1/2 – d'un plasmide saturé de SSB) ; barre d'échelle 100 nm.

>>>

lement illégitime. D'autres protéines (comme Srs2 chez la levure), par leur capacité à déstabiliser les filaments Rad51, entrent alors en jeu et permettent de réguler la *recombinaison* en faisant avorter le processus (fig. 3b-c) [4].

La *recombinaison homologue* ne sert pas que pour la *réparation* ; en effet, elle intervient aussi dans la transformation bactérienne, mécanisme d'échanges génétiques largement répandu, qui consiste en l'intégration d'ADN exogène dans le génome de la bactérie. De nombreuses protéines sont là pour contrôler le bon déroulement du processus, dont des protéines spécialisées dans la prise en charge de l'ADN simple brin, comme gp32 (fig. 3d) ou SSB (fig. 3e) [5].

Surprenant ARN

Les ARN, produits par *transcription* de l'ADN par les polymérases, ont deux grands types de fonctions dans la cellule : ils peuvent servir de vecteurs de l'information génétique pour la production de protéines (ARN codants), ou de médiateurs dans certaines fonctions catalytiques (ARN non codants).

Les molécules d'ARN sont souvent difficiles à visualiser en microscopie moléculaire, de par leurs petites tailles et leurs motifs de repliement irréguliers. La figure 4 montre quelques exemples remarquables. Tout d'abord, le petit ARN non codant 7SK, qui agit comme régulateur de la *transcription* de nombreux gènes chez l'homme, replie ses 331 nucléotides en un motif à 3 branches facilement reconnaissable en TEM ou AFM (fig. 4a). Les bactéries aussi possèdent de nombreux ARN non codants qui participent à la régulation de l'expression génétique ; en cherchant à visualiser l'un d'eux, GcvB, long de 206 nucléotides, nous avons découvert que ces petits ARN étaient capables de s'auto-assembler pour produire des structures branchées de plus de 500 nm (fig. 4b). Nous avons par la suite montré qu'un autre ARN de bactérie (DsrA, 87 nucléotides) présentait la même propriété (fig. 4c), ce qui semble indiquer que ce processus d'auto-assemblage pourrait être partagé par de nombreux petits ARN non codants. Son rôle physiologique reste cependant encore à identifier. En poursuivant l'investigation de ce mécanisme d'assemblage, nous avons observé qu'une petite partie centrale de DsrA, longue de 22 nucléotides, était responsable de l'auto-association des ARN entre eux et gardait

en elle-même la capacité de former de longues chaînes d'ARN (fig. 4d) [6]. Ces découvertes ouvrent de nouvelles perspectives en termes de nanotechnologies basées sur les assemblages d'acides nucléiques.

Futurs développements

Pour caractériser la structure tridimensionnelle des complexes nucléoprotéiques, nous développons la cryomicroscopie de l'ADN et des complexes associés. La cryomicroscopie électronique repose sur l'observation d'objets biologiques hydratés et congelés, proches de leur état natif en solution. Couplée à des techniques d'analyse d'images, elle permet d'obtenir des informations structurales avec une résolution proche du nanomètre. La cryomicroscopie utilise un mode de préparation des molécules très spécifique : celles-ci, en suspension dans un film liquide d'une centaine de nm d'épaisseur, sont immobilisées par une congélation ultrarapide qui transforme le solvant aqueux en un film de glace amorphe ; ceci autorise, avec un porte-objet refroidi à l'azote liquide, l'obtention

d'images stéréoscopiques des molécules figées dans la glace, sans contrastant ni film support. La procédure classique d'acquisition d'images permet une reconstruction 3D à partir de deux images d'un même objet, obtenues sous différents angles dans des conditions d'éclairement à faible dose. Appliquée aux complexes nucléoprotéiques, cette technique permet, d'une part, de définir les architectures des complexes, mais aussi les étapes d'assemblage en réalisant des cinétiques rapides.

Dans une autre direction, les développements de l'AFM en milieu liquide permettent de mieux appréhender la dynamique des complexes nucléoprotéiques, leur assemblage et leur remodelage sous l'action de moteurs moléculaires. L'approche méthodologique nécessite d'une part de poursuivre la rationalisation de l'adsorption des molécules d'ADN nues en des points fixes, contrôlés sur différents types de surfaces et compatibles avec les conditions d'étude en liquide, et d'autre part d'étudier l'influence de la surface sur la formation des complexes nucléoprotéiques. Cette recherche rassemble des compétences et

4. Visualisation de molécules d'ARN.

(a) Molécules de 7SK, petit ARN non codant humain ; barre d'échelle 20 nm.
(b,c) Auto-assemblage de GcvB (b) et DsrA (c), petits ARN non codants de bactéries ; barre d'échelle 100 nm.
(d) « Tapis » de chaînes d'ARN formées par l'auto-assemblage d'une sous-partie centrale de DsrA ; ces ARN, en s'associant, forment des structures qui ressemblent à de longs acides nucléiques doubles brins (encart : zoom de la même préparation étalée en condition 5 fois moins concentrée) ; barres d'échelle 250 nm.

des techniques expérimentales issues de la chimie, de la physique et de l'instrumentation. L'immobilisation de l'ADN sur la surface doit être suffisamment légère pour lui permettre de conserver son activité biologique et de rester accessible aux protéines, tout en étant suffisamment forte pour permettre l'observation. D'un point de vue instrumental, la nouvelle génération d'AFM « rapides », pour lesquels le temps d'acquisition des images peut descendre jusque 50 ms, permet d'envisager l'étude dynamique de l'assemblage et du remodelage de complexes nucléoprotéiques. Par ailleurs, l'association de l'AFM avec les nouvelles techniques optiques en haute résolution, telles que le **STED** ou le **PALM/STORM**, ouvre la voie à l'étude de complexes multiprotéiques, où chaque partenaire pourra être identifié par un marquage fluorescent spécifique, et qui sera corrélé à l'imagerie AFM haute résolution. ■

Nous remercions tous les membres actuels ou anciens du laboratoire qui ont travaillé sur les projets présentés dans cet article : Pauline Dupaigne, Fabrice Landousy, Josette Jeusset, Sophie Lafosse, Sonia Baconnais, Fatima Héniche, Anne De Cian et Étienne Delain. Nous tenons également à remercier David Pastré et Loïc Hamon pour leur collaboration au travail en AFM.

Glossaire

ATP

Adénosine-5'-triphosphate, molécule qui, dans la biochimie des organismes vivants, fournit par hydrolyse l'énergie nécessaire aux réactions chimiques du métabolisme.

Chromatine

Substance de base des chromosomes, correspondant à l'association de l'ADN avec des protéines basiques (principalement les histones), et qui représente la forme sous laquelle se présente l'ADN dans le noyau des cellules eucaryotes (cet ADN n'étant donc jamais « nu », comme il peut parfois l'être partiellement dans les cellules procaryotes ou, encore plus, dans les virus).

Coloration négative

Technique de préparation pour la TEM, qui consiste à déposer les biomolécules (protéines, complexes nucléoprotéiques) sur une grille de microscopie, puis à les enrober dans un film mince de colorant (acétate d'uranyle). Cette technique permet de protéger la structure des objets et constitue une méthode de choix pour l'analyse structurale des biomolécules.

Coloration positive

Technique de préparation pour la TEM, qui consiste à marquer avec un colorant (par exemple l'acétate d'uranyle) les biomolécules préalablement déposées sur une grille de microscopie. Associée à l'observation en fond noir, elle permet d'améliorer le rapport signal sur bruit. C'est la technique de référence en TEM pour l'observation des acides nucléiques.

Eucaryotes

Organismes (pour la plupart pluricellulaires) dont les cellules possèdent un noyau qui renferme les chromosomes.

Histones

Protéines basiques, principales constituantes de la chromatine.

Mica

Roche (appartenant au groupe des silicates) composée de feuillets monoatomiques reliés entre eux par des liaisons faibles, qui fournissent, après séparation par clivage, des surfaces atomiquement planes de plusieurs mm², d'où leur utilisation courante comme surface d'étalement des échantillons en AFM.

Nucléosome

Sous-unité structurale de base de la chromatine, constituée d'environ 150 paires de bases d'ADN enroulées autour d'un octamère d'histones. Cet ADN, rendu inaccessible par sa liaison aux histones, aux diverses enzymes nucléaires (facteurs de transcription, de réparation, polymérases, etc.), doit donc être préalablement relâché pour permettre sa transcription ou sa réplication. Cet « accès contrôlé » se fait par l'action d'un certain nombre d'enzymes utilisant l'énergie de l'ATP, dont les facteurs de remodelage.

PALM/STORM

Acronymes de "Photo-Activated Localization Microscopy" et "Stochastic Optical Reconstruction Microscopy". Il s'agit en fait de la même technique, développée par deux laboratoires sous deux noms différents, de microscopie optique haute résolution, qui repose sur l'allumage aléatoire de fluorochromes photo-activés par des flashes de lumière. L'observation des molécules une à une permet alors de descendre à des résolutions allant jusqu'à 10 nm.

Plasmide

Molécule d'ADN circulaire que l'on trouve dans les bactéries, à côté de l'ADN chromosomique.

Procaryotes

Organismes unicellulaires (telles les bactéries) dépourvus de noyau ; leur ADN chromosomique forme alors une pelote (le nucléoïde) repliée à même la cellule.

Recombinaison

Processus par lequel une molécule d'ADN est coupée, puis jointe à une autre. La recombinaison intervient principalement :

- 1) lors de la formation des gamètes, et est ainsi responsable du brassage génétique à l'origine de la diversité d'une population (on parle alors de recombinaison génétique) ;
- 2) dans la réparation de l'ADN, ou elle correspond en fait à un évènement de recombinaison génétique entre deux séquences identiques situées sur deux molécules d'ADN distinctes (on parle alors de recombinaison homologue).

Réparation

L'ADN (et le message génétique qu'il porte) est continuellement menacé, aussi bien par des stress exogènes (pollution chimique, rayonnements ionisants) que par le métabolisme cellulaire. Les cellules possèdent donc un certain nombre de mécanismes aussi variés qu'efficaces (recombinaison homologue, jonction de brins, réparation de mésappariements, etc.) pour réparer leur ADN endommagé et ainsi préserver leur information génétique.

Réplication

Processus au cours duquel l'ADN est dupliqué, afin de préparer la division cellulaire et ainsi permettre aux cellules filles d'avoir chacune le même ADN que la cellule mère.

STED

Acronyme de "Stimulated Emission Depletion" ; il s'agit d'une technique de microscopie optique haute résolution (sub-diffractive) qui repose sur l'excitation par un laser d'une partie de l'échantillon, suivie de l'extinction de la zone périphérique par émission stimulée (désexcitation d'un électron), seul le centre de la zone excitée restant alors fluorescent. L'utilisation de cette technique par balayage permet d'obtenir des images dont la résolution atteint 35 nm.

Transcription

Copie des régions codantes de l'ADN en molécules d'ARN qui, exportées hors du noyau, serviront de support pour la synthèse des protéines par les ribosomes.

En savoir plus

- 1• C. Colliex, *La microscopie électronique*, Presses Universitaires de France, collection Que sais-je ?, Paris (1998).
- 2• L. Aigouy, Y. de Wilde et C. Fréty, *Les nouvelles microscopies*, Belin, collection Échelles, Paris (2006).
- 3• P. Dupaigne *et al.*, "Rad51 polymerization reveals a new chromatin remodeling mechanism", *PLoS ONE* **3** (2008) e3643.
- 4• X. Veaute *et al.*, "The Srs2 helicase prevents recombination by disrupting Rad51 nucleoprotein filaments", *Nature* **423** (2003) 309-12.
- 5• L. Hamon *et al.*, "High-resolution AFM imaging of single-stranded DNA-binding (SSB) protein-DNA complexes", *Nucleic Acids Res.* **35** (2007) e58.
- 6• B. Cayrol *et al.*, "Auto-assembly of E. coli DsrA small noncoding RNA", *RNA Biol.* **6** (2009) 434-45.