

Excursiones matemáticas en biología

por

Sergio Ardanza Trevijano, Universidad de Navarra

Las moléculas de ADN son lo bastante largas y flexibles como para ser objeto de estudio desde el punto de vista de la topología. Entre las configuraciones posibles de este ácido nucleico aparecen con frecuencia los nudos y enlaces topológicos.

Un nudo es una curva cerrada en el espacio que no se corta a sí misma y un enlace es una colección de nudos entrelazados en el espacio.



A la izquierda el nudo no trivial más sencillo, el nudo trébol,
y a su derecha un enlace no trivial hecho con nudos triviales

Resulta curioso que los nudos se empezaron a estudiar precisamente en conexión con la naturaleza. Desde tiempos de Aristóteles hasta finales del siglo XIX se creía que un fluido invisible, el éter, llenaba el espacio. En 1867 Lord Kelvin propuso un modelo para la estructura atómica de la materia. En este modelo los átomos estaban formados por tubos de éter que se anudaban, así los diferentes nudos correspondían a átomos diferentes. Motivado por este modelo, P. Tait intentó clasificar y tabular los distintos tipos de nudos. Un experimento crucial que Michelson y Morley efectuaron en 1887, determinó que el éter no existía, con lo que la teoría

de nudos perdió el interés desde el punto de vista de la física y química aunque ya para entonces había despertado el de los matemáticos que la convirtieron en una fructífera disciplina. Los trabajos de V. Jones a mediados de los ochenta mostraron nuevas relaciones con la mecánica cuántica y como describimos en esta nota, la teoría de nudos ha suscitado recientemente interés en el campo de la biología.

1. El ADN

Los esfuerzos conjuntos de varios científicos en la mitad del siglo XX culminaron con el descubrimiento por parte de J. Watson, F. Crick al analizar las muestras cristalográficas de R. Franklin, de la estructura tridimensional del ADN como una doble hélice de cadenas complementarias de Azúcar-Fosfato. En el célebre artículo de Nature donde Watson y Crick presentaron esta estructura a la comunidad científica, aparece expresada una idea que tomaremos como punto de partida para nuestra exposición:

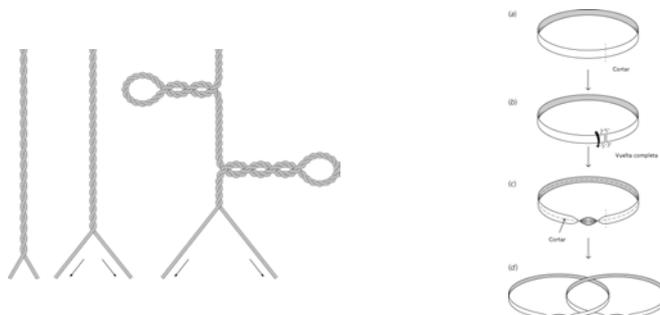
It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

En efecto el material genético se puede copiar durante la replicación gracias a un mecanismo donde la estructura de la doble hélice se abre por su centro, como si de una cremallera se tratase, y se desenrolla usando cada una de las hebras para reproducir la estructura completa del ADN.



De una cadena original de ADN se producen dos copias idénticas

Sin embargo este mecanismo de reproducción choca con obstrucciones, de tipo geométrico y/o topológico, según ilustran las siguientes figuras:



Obstrucciones geométricas y topológicas a la replicación

Ya desde un principio se propusieron dos posibles soluciones:

- Rotar la doble hélice para desenrollarla antes de alcanzar el lugar de la replicación
- Cortar y pegar para evitar los enlaces.

En los virus y bacterias el ADN aparece frecuentemente en forma cerrada (sin extremos libres). En los seres humanos se presenta en forma lineal, sin embargo, debido a que se encuentra anclado en varios lugares de un andamio formado por proteínas, debe resolver los mismos problemas que una estructura cerrada. La topología de las estructuras cerradas del ADN puede ser muy compleja y hay unas enzimas en nuestro organismo, las topoisomerasas, que se encargan de simplificar la topología para facilitar la reproducción celular.

2. Geometría del ADN

El descubrimiento de que el virus del Polyoma tiene una estructura de ADN circular, marcó el comienzo del estudio geométrico-topológico del ADN. Uno de los primeros fenómenos que se descubrieron es que el ADN del Polyoma se presenta de dos formas distintas: una superenrollada y otra relajada. Tratando de buscar una manera de medir este superenrollamiento se introdujeron los primeros conceptos relacionados con la geometría y topología de una cinta cerrada con la fórmula de Calugareanu-White, donde se relacionan el número de enlace Lk , la torsión Tw y el enrollamiento Wr .

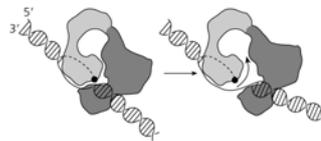
$$Lk = Tw + Wr.$$

El número de enlace entre dos nudos orientados (en este caso formados por los dos extremos de una cinta cerrada orientada), viene definido, dada una proyección,

como el número de cruces positivos menos el número de cruces negativos dividido por dos.

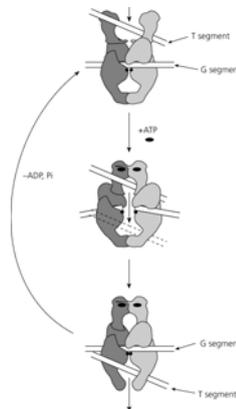
El writhe mide cómo se enrolla el eje central alrededor de sí mismo, para una proyección se puede calcular como la suma del número de cruces positivos que tiene el eje central de la hélice menos el número de cruces negativos. Para calcular el writhe de un nudo hacemos la media del resultado de todas las proyecciones. Por otra parte el twist es el número de vueltas que da una hebra de ADN alrededor del eje central.

La fórmula de Calugareanu-White se utiliza con frecuencia en los estudios del ADN superenrollado. Podemos hacer un experimento sencillo con un cinturón. Sujetamos un extremo en cada mano y estiramos hasta que esté tenso. En este momento, el número de enlace, el twist y el writhe son todos nulos. Manteniendo la tensión dejamos un extremo fijo y damos vueltas en el otro. Estamos aumentando el twist pero el writhe sigue siendo cero (el número de enlace por tanto, también aumenta). Si ahora acercamos las manos, el cinturón se destensa y el twist se transforma en writhe produciéndose el superenrollamiento. Esta operación de “dar vueltas” la realizan en los seres vivos las enzimas de una familia conocida como Topoisomerasas de tipo I. Lo que ocurre es que una de las hebras que componen la doble hélice se rompe permitiendo girar el otro extremo libremente.



Esquema de la actuación de la topoisomerasa I

Existe otra familia de enzimas, las topoisomerasas de tipo II, que pueden tratar con los problemas de enlazamiento y anudamiento. Estas enzimas son capaces de romper las dos hebras de la doble hélice para dejar pasar un fragmento de dicha hélice a través.



Esquema de la actuación de la topoisomerasa II

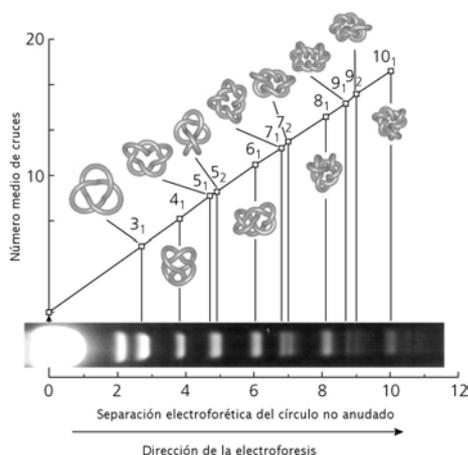
La importancia que tienen estos dos tipos de enzimas, capaces de anudar y desanudar durante la replicación celular, las han hecho dianas de muchos fármacos. Sin embargo aún se está lejos de comprender totalmente dónde y cómo actúan estas y otras enzimas y es aquí donde las matemáticas de los nudos están resultando ser de utilidad.

3. Nudos en el laboratorio

El descubrimiento de que el ADN podía formar nudos, se debe a Wang y sus colaboradores. En 1976, un experimento en el que trabajaba este grupo con una molécula circular de una hebra de ADN sobre la que actuaba una cierta proteína (que resultó ser la topoisomerasa I) dio como resultado un ADN que sedimentaba más rápido. Al hacer las fotografías de microscopio electrónico descubrieron que se obtenían anillos de ADN con al menos tres puntos de cruce, lo que contrastaba con el ADN sin tratar que apenas mostraba puntos de cruce. Una sola hebra de ADN no presenta superenrollamiento así que la explicación debía ser otra. Sin embargo en estas primeras imágenes de microscopio electrónico era difícil distinguir los cruces positivos y negativos, problema que fue resuelto recubriendo las hebras de ADN con la proteína REC A. De esa forma, se dieron cuenta de que habían obtenido moléculas anudadas de ADN en sus experimentos. En 1981 de nuevo Wang y sus colaboradores observaron que naturalmente en el virus bacteriófago P2 se encontraba anudada la doble hélice de ADN.

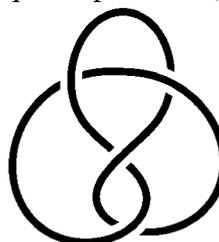
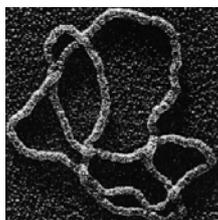
Hay dos procedimientos muy extendidos en los laboratorios de biología molecular que se han utilizado para detectar nudos de ADN, la electroforesis por gel de agarosa y la microscopía electrónica.

En la electroforesis, el ADN se inyecta en un gel cerca del polo negativo en un recipiente rectangular con un campo eléctrico. Como el ADN tiene carga negativa, se desplaza alejándose del polo negativo y acercándose al polo positivo de la carga. El gel forma una barrera porosa y las moléculas de ADN más compactas viajan a más velocidad. Esta técnica se empleó en un principio para distinguir el enrollamiento del ADN, pues cuanto más enrolladas, más rápido viajan las moléculas en el gel. Para estudiar los nudos con electroforesis, es necesario introducir la noción de configuración ideal de un nudo. Un nudo topológico se puede formar con una curva de cualquier longitud. Si consideramos el nudo como un objeto con un grosor determinado, existe una longitud mínima con la que se puede formar un nudo, y ésta es la configuración ideal. En 1996 A. Stasiak probó que la migración de un nudo en un gel de agarosa, es casi lineal con el número de cruces de su configuración ideal.



Migración de nudos en el gel. El polo negativo está situado a la izquierda y el positivo en la derecha. Cada banda corresponde a un nudo distinto y en vertical aparece su correspondiente nudo ideal, con su número medio de cruces en el eje.

Por otra parte gracias a la técnica introducida por N. Cozzarelli, la microscopía electrónica de moléculas de ADN engordadas con la proteína REC A, ha permitido identificar con precisión el tipo de nudo que se presenta (su proyección).

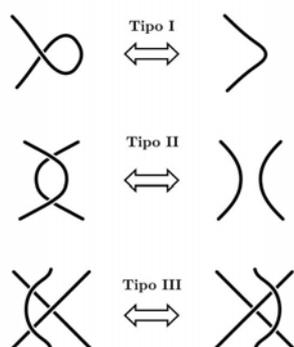


Fotografía de microscopio electrónico y su nudo correspondiente

4. Distinguiendo nudos

Presentamos un nudo mostrando un objeto tridimensional en una proyección bidimensional tanto cuando los dibujamos a mano o con el ordenador, como cuando tomamos una imagen con microscopio electrónico. El problema que se plantea es ¿cómo distinguir cuándo los nudos formados por diferentes procesos biológicos son diferentes entre sí?

El distinguir nudos a partir de una proyección donde los cruces están determinados (sabemos qué parte pasa por encima o por debajo) es un problema que ha fascinado a varias generaciones de matemáticos. Una de las maneras más sencillas de definir cuándo dos nudos son equivalentes a partir de una proyección es utilizando los movimientos de Reidemeister.



Movimientos de Reidemeister

Reidemeister demostró que dos proyecciones de nudos representan nudos equivalentes (isotópicos) si se puede pasar de una a otra con una combinación finita de los movimientos ilustrados en la figura anterior, aunque esta demostración no es constructiva, es decir, dadas dos proyecciones del mismo nudo, no tenemos un algoritmo para pasar de una proyección a otra diferente. Por ejemplo mostramos a continuación una proyección del nudo trivial, pero encontrar la combinación de movimientos de Reidemeister que lo demuestre no es nada evidente.

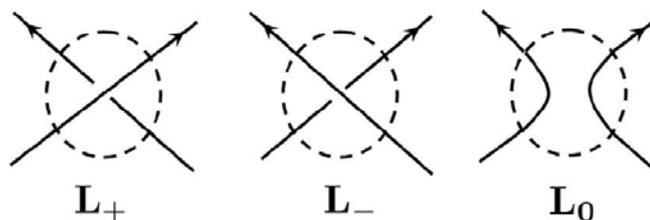


¿Es este nudo trivial?

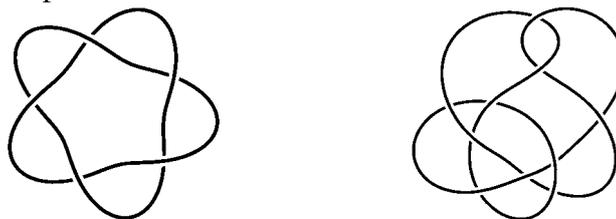
Hay gran cantidad de invariantes que se han descrito con la intención de distinguir los nudos. Una familia particular es la de los polinomios invariantes. A partir de una proyección construimos un polinomio que tiene la peculiaridad de coincidir para todas las proyecciones posibles del mismo nudo (proyecciones donde no más de dos hebras se crucen en un punto). Describimos a continuación uno de ellos, el polinomio HOMFLY descubierto por Hoste, Ocean, Millet, Freyd, Lickorish y Yetter. Dado un nudo o enlace L definimos este polinomio en dos variables $P_L(x, y)$ recursivamente del siguiente modo:

- $P(O) = 1$ donde O es el no-nudo.
- Si L es equivalente a L' entonces $P_L = P_{L'}$
- $xP_{L_+} + \frac{1}{x}P_{L_-} + yP_{L_0} = 0$

Donde fijado un enlace orientado y un cruce, L_+ es el enlace con el cruce positivo, L_- con el cruce negativo y L_0 sin cruce según el siguiente diagrama.



Este polinomio se puede utilizar para distinguir muchas clases de nudos, en particular cualquier nudo de 9 cruces o menos está caracterizado por su polinomio Homfly (no hay otros nudos con 9 cruces o menos con el mismo polinomio) pero si pasamos de 10 cruces ya no distingue todos. Por ejemplo los siguientes nudos tienen el mismo polinomio.



Dos nudos no equivalentes con el mismo polinomio Homfly

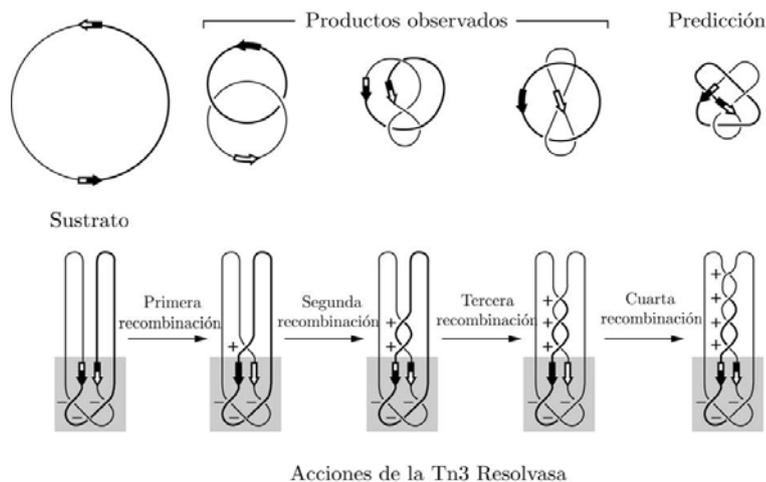
Hay muchos polinomios similares definidos para distinguir nudos (Alexander, Jones, etc), y aunque el problema de conseguir un invariante computable y completo está aún abierto, no significa que estos polinomios carezcan de interés, ya que en nuestras aplicaciones biológicas frecuentemente aparecen nudos con pocos cruces que son clasificados con facilidad. El excelente software knotplot¹ de Rob Scharein, con el que están dibujadas la mayor parte de las figuras de este artículo, nos permite calcular, entre otros, invariantes como el polinomio Homfly y el de Alexander.

5. Enzimología Topológica

Hemos visto que hay enzimas, las topoisomerasas, que pueden cambiar la topología del ADN. Otras enzimas que también pueden realizar estos cambios son las recombinasas de sitio específico, que se encargan de combinar el material genético rompiendo dos hebras de ADN y uniendo la mitad de una con la

¹<http://www.knotplot.org/>

de la otra. Hay numerosas enzimas de este tipo (principalmente en virus y bacterias). El mecanismo y los lugares de actuación de ambos tipos de enzimas no está completamente determinado y las matemáticas han abierto nuevas puertas en este estudio.



Acciones de la Tn3 Resolvasa

La enzimología topológica estudia estos procesos del siguiente modo. Fijado un sustrato no anudado, se deja actuar la enzima objeto de estudio repetidas veces, actuando como una caja negra, y se observan los nudos resultantes. Se hace un modelo para la actuación de la enzima y utilizando diversas herramientas de la teoría de nudos (en este caso la de ovillos racionales) se predice el nudo que debería salir. Se comprueba experimentalmente dejando actuar de nuevo a la enzima y si el resultado coincide con el predicho el modelo es adecuado. Hay que tener en cuenta que a medida que la acción de la enzima se complica la probabilidad de acertar al azar el nudo resultante es muy pequeña. Por ejemplo, existen más de diez mil nudos no equivalentes con trece cruces o más de un millón con dieciséis cruces. El primer éxito con esta técnica fue la caracterización de la Tn3 Resolvasa por C. Ernst y DW. Sumners.

Además de estas aplicaciones, la topología ha servido para estudiar cómo se empaqueta el ADN dentro de los virus. Los virus bacteriófagos presentan gran cantidad de ADN encerrado en un pequeño volumen. Los estudios de J. Arsuaga han mostrado cómo el ADN dentro de esos virus se ha de presentar fuertemente anudado, lo que requiere de importantes acciones de las topoisomerasas para desenudar y desenlazar el ADN a la hora de la infección a otras células.

Hemos visto algunas de las aplicaciones de la teoría de nudos a la biología. De la abundante bibliografía recomendamos al lector dos monografías para profundizar sobre el tema (la primera escrita por dos biólogos, la segunda por una matemática) y un artículo de divulgación de uno de los pioneros.

Bibliografía

- [1] A.D. Bates and A. Maxwell, *DNA topology*, Oxford University Press, 2005.
- [2] E. Flapan, *When topology meets Chemistry*, Cambridge University Press, 2000.
- [3] DW. Sumners, *Lifting the Curtain: Using Topology to Probe the Hidden Action of Enzymes*, Notices of the AMS, May 1995.

Sergio Ardanza Trevijano

Universidad de Navarra
Departamento de Física y
Matemática Aplicada
Irunlarrea s/n
31080 Pamplona
e-mail: sardanza@unav.es

