ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΡΗΤΩΝ ΚΟΜΒΩΝ ΣΤΟ DNA

Παρουσίαση: Μπουζνεάν Σιμόνα-Μιχαέλα
Σχολή: ΣΕΜΦΕ
Διδάσκουσα: Λαμπροπούλου Σοφία

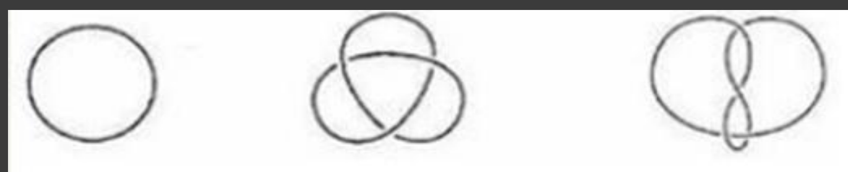
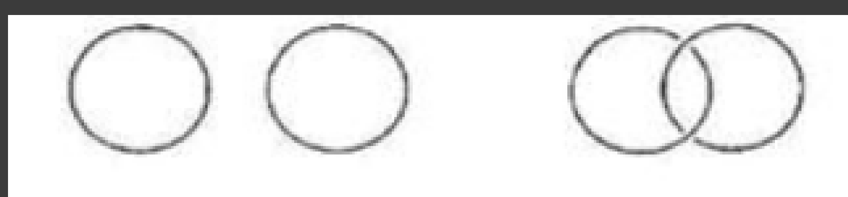
Τι είναι η Θεωρία Κόμβων;

- Η Θεωρία Κόμβων είναι ένας κλάδος της Τοπολογίας που εξετάζει τους κόμβους και τους κρίκους.Η ταξινόμηση των κόμβων αποτελεί πολύ χρήσιμο εργαλείο για πολλές έρευνες. Οι εφαρμογές έχουν ένα ευρύ φάσμα επιστημονικών πεδίων όπως: Στατιστική Μηχανική, Χημεία,Ατομική θεωρία,Θεωρία Γραφημάτων και Μοριακή Βιολογία.

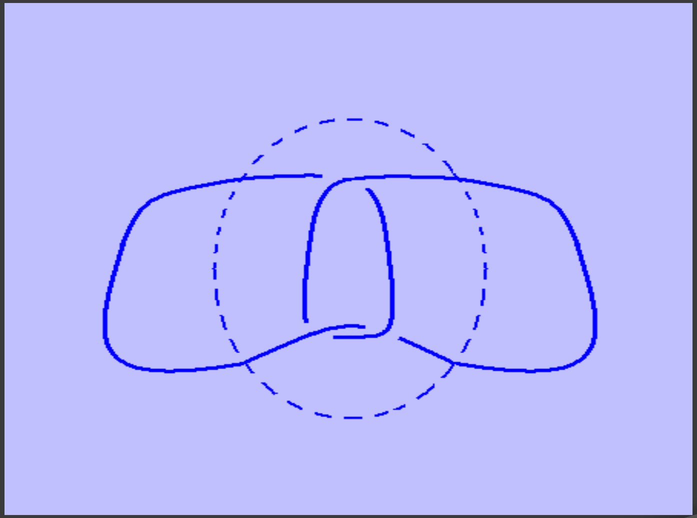
Κόμβοι και Μοριακή Βιολογία

- Στην παρούσα εργασία, θα επικεντρωθούμε στην χρήση αυτής της θεωρίας στην μοριακή βιολογία,όπου ένα σημαντκό ζήτημα είναι η τρισδιάστατη μορφή των πρωτεϊνών και των προδρόμων τους στο κύτταρο(DNA,RNA). Η στενή σχέση μεταξύ της δομής και της λειτουργίας τους είναι ένα πολύ ενδιαφέρον αντικείμενο μελέτης και συγκεκριμένα η τοπολογική προσέγγιση του θέματος.Δηλαδή η περιγραφή βασικών λειτουργιών με μαθηματικά εργαλεία.

Βασικοί ορισμοί

- **Κόμβος** K, είναι μια κλειστή,μονοδιάστατη και συνεχής μη τεμνόμενη καμπύλη στον τρισδιάστατο χώρο.Είναι η εικόνα ενός ομοιομορφισμού που μεταφέρει έναν κύκλο στον τρισδιάστατο χώρο.
- 
- Κρίκος Λ, είναι μια εμφύτευση απο n αντίγραφα ενός κύκλου στο χώρο ή στη σφαίρα ⟦S ⟧^3.
- 

- <u>**Διαπλοκή**</u> είναι οποιαδήποτε περιοχή ενός διαγράμματος κόμβων η οποία μπορεί να περιβληθεί απο κύκλο έτσι ώστε ο κύκλος να διασταυρώνει τον κόμβο σε 4 σημεία.



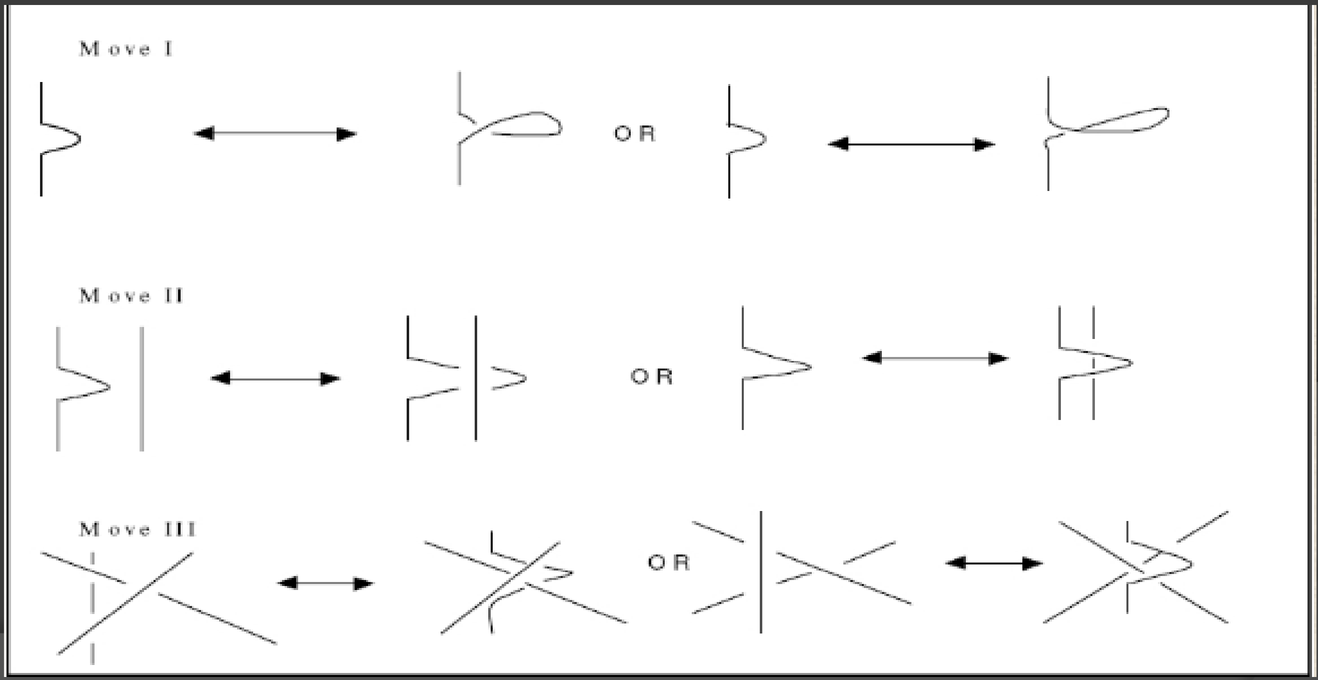
Ισοτοπία κόμβων και διαπλοκών

- Δύο κόμβοι K1,K2 λέγονται ισοτοπικοί εάν υπάρχει ομοιομορφισμός του χώρου που μεταφέρει τον K1 στον K2.(Μπορούν να μετασχηματιστούν ο ένας στον άλλον μέσω ισοτοπίας).

- Δύο διαπλοκές είναι ισοτοπικές εάν με μία ακολουθία απο κινήσεις Reidemeister μπορούμε απο την μία να έχουμε την άλλη με την προυπόθεση οτι η διαπλοκή παραμένει μέσα στον κύκλο κατα την διάρκεια των κινήσεων.

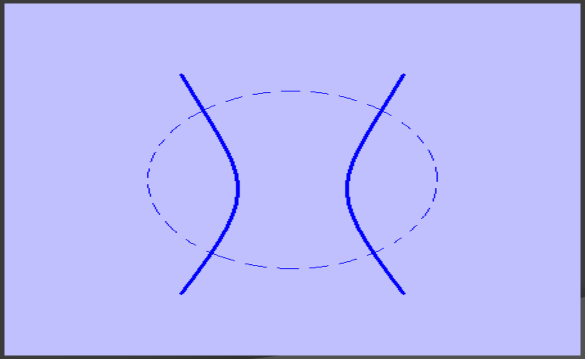
Κινήσεις Reidemeister

- Ο Kurt Reidemeister απέδειξε ότι οποιαδήποτε ισοτοπική κίνηση ενός κόμβου στο χώρο μπορεί να επιτευχθεί στο επίπεδο μόνο με τρεις κινήσεις.

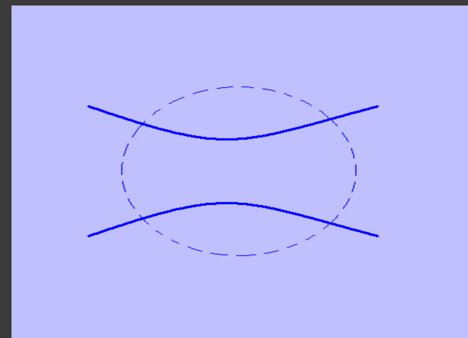


Συμβολισμός Conway

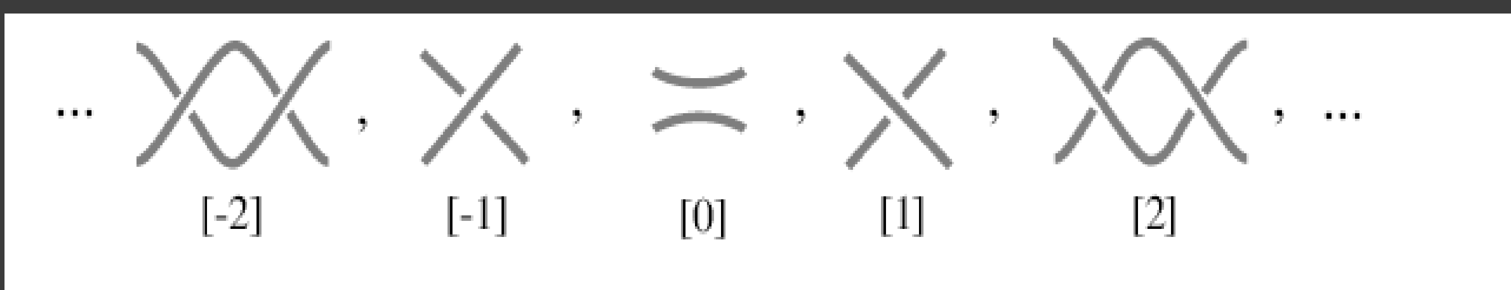
- Ο συμβολισμός Conway μας επιτρέπει να χαρακτηρίσουμε ακόμα και περίπλοκες διαπλοκές με αρκετά απλό τρόπο.
- Μερικές βασικές διαπλοκές είναι οι εξής:
- ‘Ενα ζεύγος απο μη τεμνόμενες κάθετες γραμμές ονομάζεται [∞] διαπλοκή



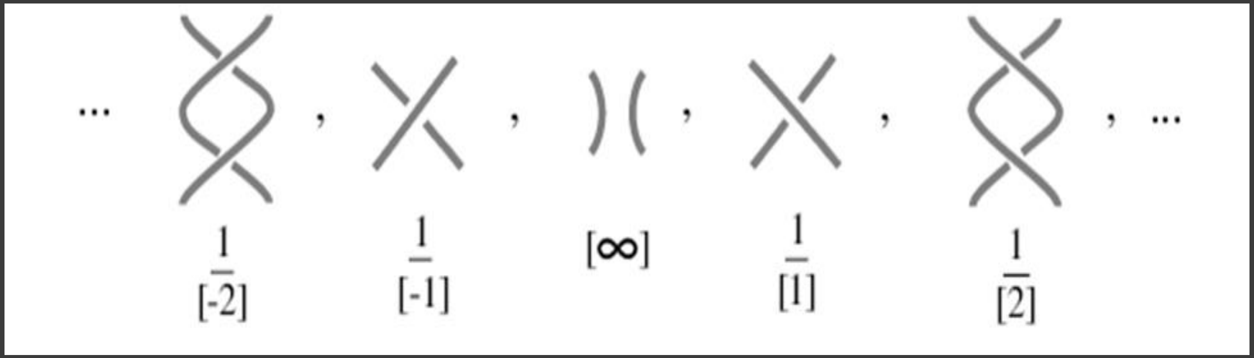
- ‘Ενα ζεύγος απο μη τεμνόμενες οριζόντιες γραμμές ονομάζεται [0] διαπλοκή



- ‘Αν μια διαπλοκή διασταυρώνεται οριζόντια θα έχει την μορφή [n] ή [-n] ανάλογα με τον αριθμό διασταυρώσεων και με το άν η περιστροφή γίνεται δεξιόστροφα (θετικά) ή αριστερόστροφα (αρνητικά) όπως φαίνεται παρακάτω:



- ΄Αν μια διαπλοκή διασταυρώνεται κάθετα θα έχει την μορφή $\frac{1}{[n]}$ ή $\frac{1}{[-n]}$ πάλι ανάλογα με τον αριθμό διασταυρώσεων και του τρόπου περιστροφής:



- Ο John H.Conway εισήγαγε την έννοια της διαπλοκής και της σχέσης μεταξύ ρητών διαπλοκών και συνεχών κλασμάτων.

<u>Θεώρημα</u> (Conway 1970)

- Υπάρχει αμφιμονοσήμαντη και επί αντιστοιχία ανάμεσα σε κλάσεις ισοτοπίας των ρητών διαπλοκών και του συνόλου Q U {∞}.
- <u>**Ρητές διαπλοκές T**</u>, ονομάζονται αυτές που αν με ενα πεπερασμένο αριθμό συστροφών γειτονικών άκρων φτάνουμε στις βασικές διαπλοκές [0] ή [∞]. Διαφορετικά ρητές είναι οι διαπλοκές που προκύπτουν απο ανακλάσεις και δεξιόστροφες περιστροφές των άκρων απλών διαπλοκών.

T(m,n) διαπλοκές

- ο συμβολισμός αυτός δηλώνει την ενσωμάτωση μιας πεπερασμένης συλλογής απο τόξα και κύκλους στον τρισδυάστατο Ευκλείδιο χώρο,έτσι ώστε τα άκρα του τόξου να πηγαίνουν σε ένα συγκεκριμένο set m+ n σημείων στην επιφάνεια μιας B^3 μπάλας ενσωματωμένη στην S^3, ώστε τα m σημεία να βρίσκονται στο πάνω ημισφαίριο και τα n στην κάτω ημίσφαιρα με την τήρηση της συνάρτησης ύψους δηλαδή οι κύκλοι και το εσωτερικό των τόξων να είναι ενσωματωμένοι στην μπάλα.

T(2,2)

- Οι **<u>T(2,2) </u>**διαπλοκές είναι ενδιαφέρουσες γιατί είναι κλειστές ως προς τις πράξεις όπως φαίνεται παρακάτω:

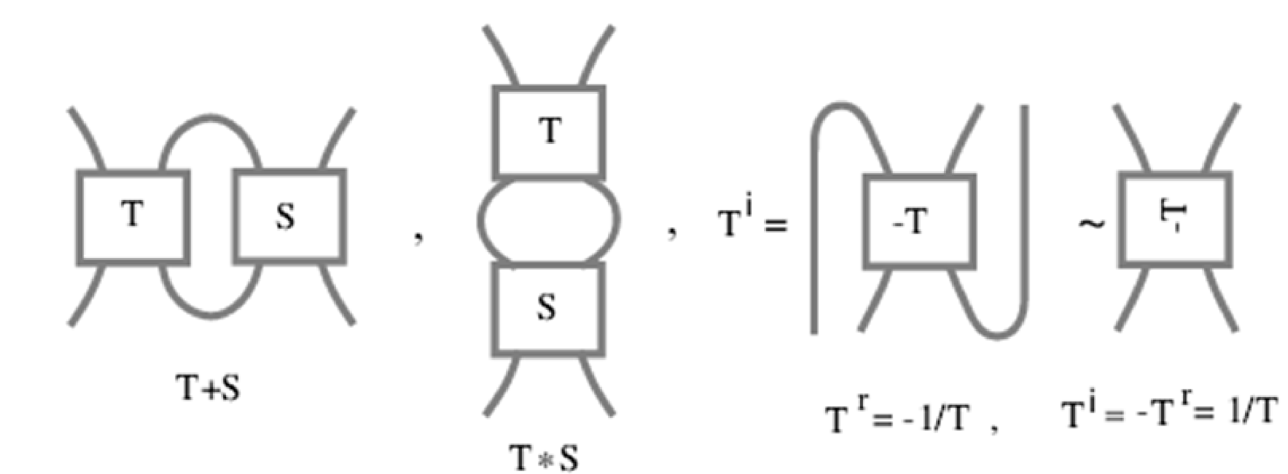
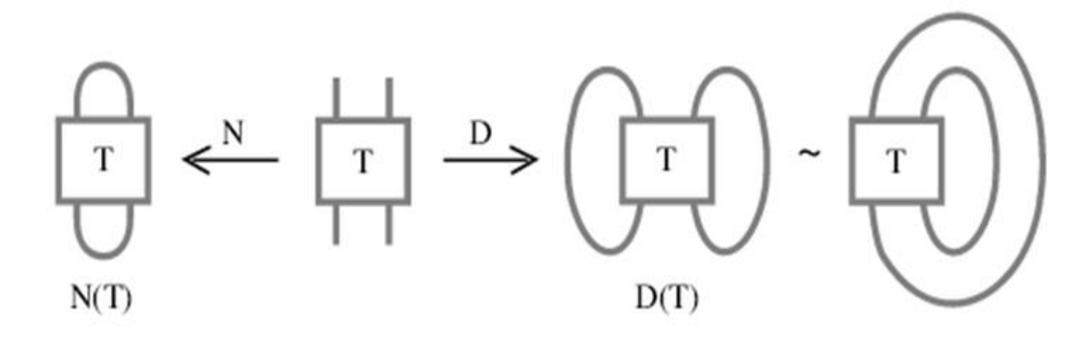


FIGURE 4. Addition, product and inversion of 2-tangles

Ορισμοί:

- **N(T)**= αριθμητής μίας 2-διαπλοκής, ένας κόμβος που προκύπτει αν ενώνεις με ένα απλό τόξο τα δύο άνω άκρα όπως και τα δύο κάτω.
- **D(T)**= παρανομαστής μίας 2-διαπλοκής ,ένας κόμβος που προκύπτει αν ενώσεις το ένα άνω άκρο με ένα κάτω με ένα απλό τόξο.



‘Οπως φαίνεται και στην εικόνα με μία απλή ανταλλαγή [0]-[∞] μπορούμε να αποκτήσουμε το N(T) απο το D(T) και αντίστροφα. Η σχέση $N(T)=N(T+[0])\rightarrow N(T+[\infty])=D(T)$ περιγράφει ακριβώς αυτήν την αλλαγή.

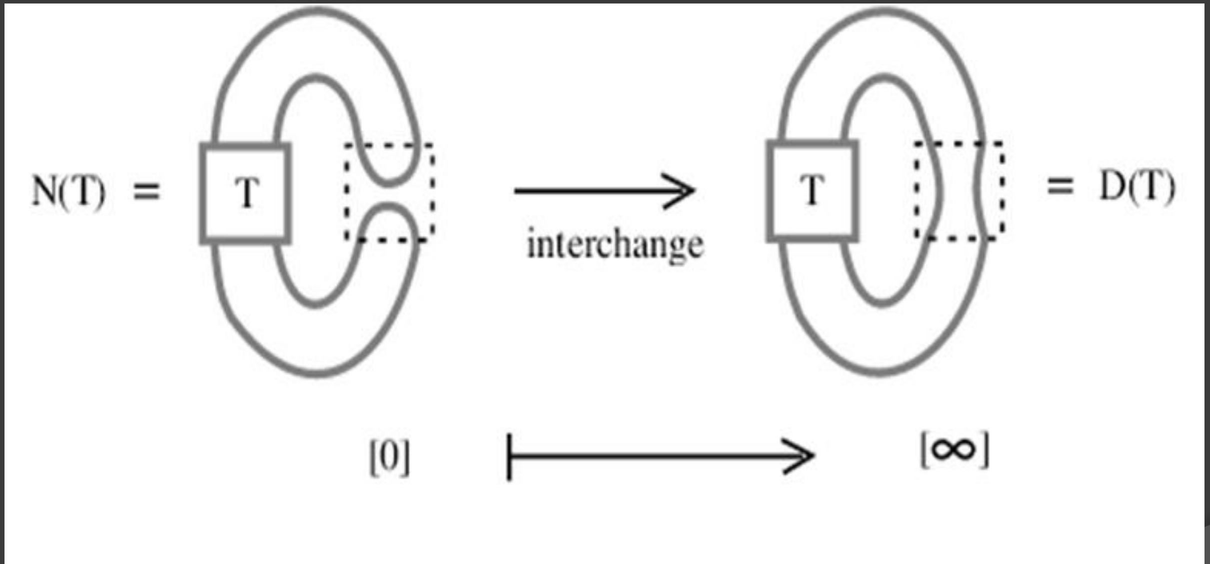


FIGURE 6. The [0] – [∞] interchange

- Μία διπλοκή ή ένας κόμβος είναι **<u>εναλλασσόμενος</u>** αν και μόνο αν έχουν τις διαβάσεις-διασταυρώσεις ίδιου τύπου (πχ. [+1]).
- **<u>Κανονική μορφή :</u>** μια ρητή διαπλοκή είναι στην κανονική μορφή αν είναι ισοτοπική με μια εναλλασσόμενη.
- **<u>A flype</u>** είναι μια ισοτοπική κίνηση μίας διαπλοκής όπως φαίνεται στο σχήμα

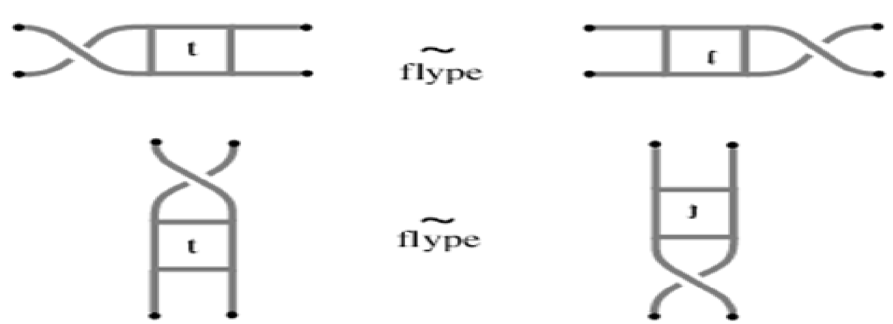
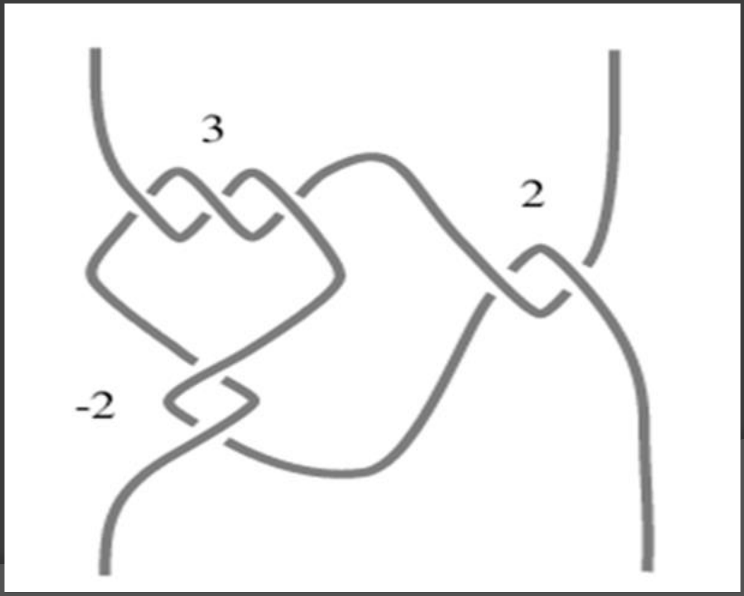


FIGURE 8. The flype moves

- Δύο διαπλοκές είναι εναλλασσόμενες και ισοτοπικές αν διαφέρουν κατά μια τέτοια κίνηση (flype).
- Δύο διαπλοκές είναι ισοτοπικές αν έχουν το ίδιο συνεχές κλάσμα.
- Κάθε ρητή διαπλοκή T μπορεί να γραφτεί σαν συνεχές κλάσμα με τον ακόλουθο τρόπο:
- $T * \frac{1}{n} = \frac{1}{[n]+\frac{1}{T}}$



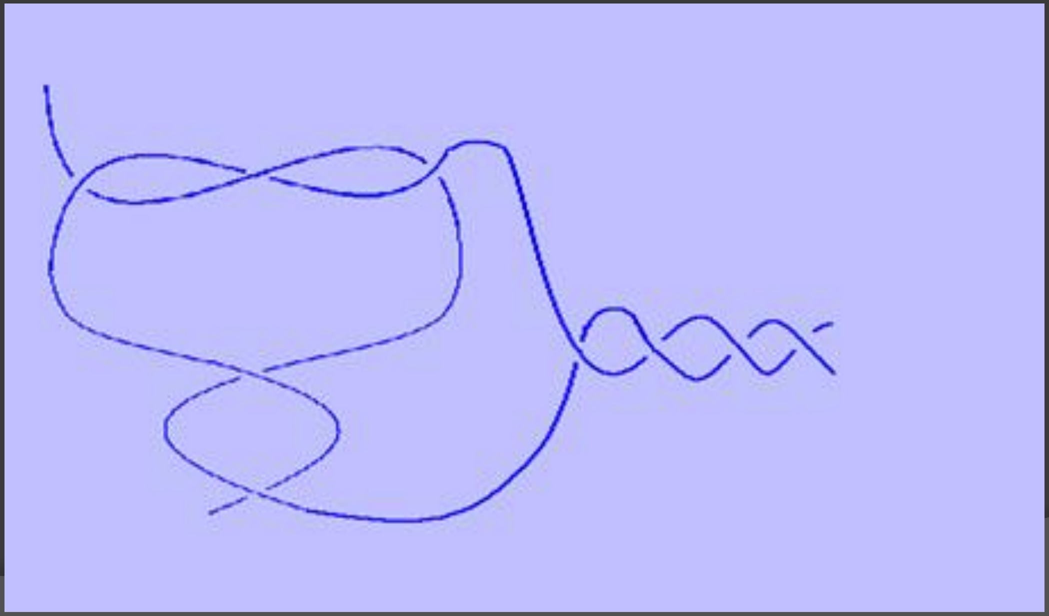
$$[2]+\frac{1}{[-2]+\frac{1}{[-3]}}$$

Συνεχής κλάσματα

- ‘Ενα **<u>συνεχές κλάσμα</u>** στις ρητές διαπλοκές είναι η αλγεβρική περιγραφή τους με ένα συνεχές κλάσμα κατασκευασμένο απο τις διαπλοκές $[\alpha_1]$,$[\alpha_2]$,...,$[\alpha_n]$ με όλους τους αριθμητές 1,δηλαδή μία τέτοια έκφραση:
- F(T)= $[[a_1], \ldots [a_n]]$=$[a_1]$+ $\dfrac{1}{[a]_{2+\,..+}\dfrac{1}{\dfrac{1}{[a]_{n-1}+\dfrac{1}{[a]_n}}}}$

´ Ενα ακόμα παράδειγμα..

- $[[a],[b],[c]]=[a]+\frac{1}{[b]+\frac{1}{[c]}}$ Δηλαδή για την διαπλοκή αυτή έχω: $[4,-2,-3]=4+\frac{1}{-2+\frac{1}{-3}}$



Ιδιότητες διαπλοκών T

Για T=[[α_1],[α_2],...,[α_n]] τα παρακάτω είναι ισοδύναμα:

- F(T+ [±1]) =F([[$\alpha_1 \pm 1$],[α_2],...,[α_n]]) =F(T)±1
- F($\frac{1}{T}$) = F([[0],[a_1],[a_2],…[a_n]])= $\frac{1}{F(T)}$
- –T =F([[$-a_1$],[$-a_2$],…[$-a_n$]]) = -F(T)

- **<u>Ορισμός:</u>** Μία ρητή διαπλοκή T[[α_1],[α_2],…[α_n]] είναι στην **κανονική μορφή** αν T είναι εναλλασόμενος και n περιττός.
- Να θυμηθούμε οτι στην κανονική μορφή είναι οι διαπλοκές που έχουν διασταυρώσεις ίδιου τύπου ή ισοδύναμα άν τα α_i είναι όλα θετικά ή όλα αρνητικά.
- **<u>Λήμμα</u>**: Κάθε ρητή διαπλοκή μπορεί ισοτοπικά να μετατραπεί στην κανονική της μορφή.
- **<u>Λήμμα</u>**: Κάθε συνεχές κλάσμα [[α_1],[α_2],…[α_n]] μπορεί να μετατραπεί σε μία <u>μοναδική κανονική μορφή</u> [[β_1],[β_2],.. [β_m]] όπου τα β_i όλα θετικά ή όλα αρνητικά και m περιττός.

Μία ανακεφαλαίωση:

- Οι ρητοί αριθμοί αντιπροσωπεύονται απο ρητές διαπλοκές.
- Οι αρνητικοί ρητοί αντιπροσωπεύονται απο την ανάκλαση ρητών διαπλοκών.
- Οι αντίστροφοι αντιπροσωπεύονται απο την αντιστροφή μίας ρητής διαπλοκής.
- Προσθέτοντας ακεραίους σε ρητούς αριθμούς αντιστοιχεί στην πρόσθεση ακέραιων συστροφών σε ρητές διαπλοκές
- Η κανονική μορφή μίας διαπλοκής είναι μοναδική αφού και το αντίστοιχο συνεχές κλάσμα της είναι στην κανονική μορφή.
- ‘Αρα ένας εύκολος τρόπος να φέρεις μια διαπλοκή στην κανονική της μορφή είναι να υπολογίσεις το κλάσμα της και με πράξεις να φτάσεις στην κανονική μορφή του κλάσματος.

Ρητοί κόμβοι

- Οι **ρητοί κόμβοι** είναι μια ειδική κατηγορία κόμβων που προκύπτουν απο τους αριθμητές ή τους παρανομαστές ρητών διαπλοκών.
- ‘Αξιο αναφοράς είναι το γεγονός ότι δύο διαπλοκές μπορεί να μην είναι ισοτοπικές αλλά να έχουν ισοτοπικούς αριθμητές N(T) άρα κατ’επέκταση και ισοτοπικούς κόμβους.

“Palindrome Theorem”

‘Αν $\{\alpha_1, \alpha_2, ..., \alpha_n\}$ μη μηδενικοί ακέραιοι αριθμοί και άν

A=$[[\alpha_1],...[\alpha_n]] = \frac{P}{Q}$ και B=$[[\alpha_n], \ldots [a_1]] = \frac{P\prime}{Q\prime}$

τότε:

1. P=P’
2. QQ’=$(-1)^{n+1}$(modP)

Θεώρημα (Scubert 1956)

- Δίνοται δύο ρητές διαπλοκές με κλάσματα $\frac{p}{q}$, $\frac{p'}{q'}$, με q,q’ περιττοί και p,q μεταξύ τους πρώτοι. ‘Αν Κ($\frac{p}{q}$), Κ($\frac{p'}{q'}$) δείχνουν τους αντίστοιχους ρητούς κόμβους που προκύπτουν απο τα κλεισίματα του αριθμητή αυτών των διαπλοκών, τότε Κ($\frac{p}{q}$) και Κ($\frac{p'}{q'}$) είναι τοπολογικά ισόμορφα (ισοδύναμα) αν και μόνο αν:

1. p=p’
2. q=q’(modp) ή qq’=1(modp)

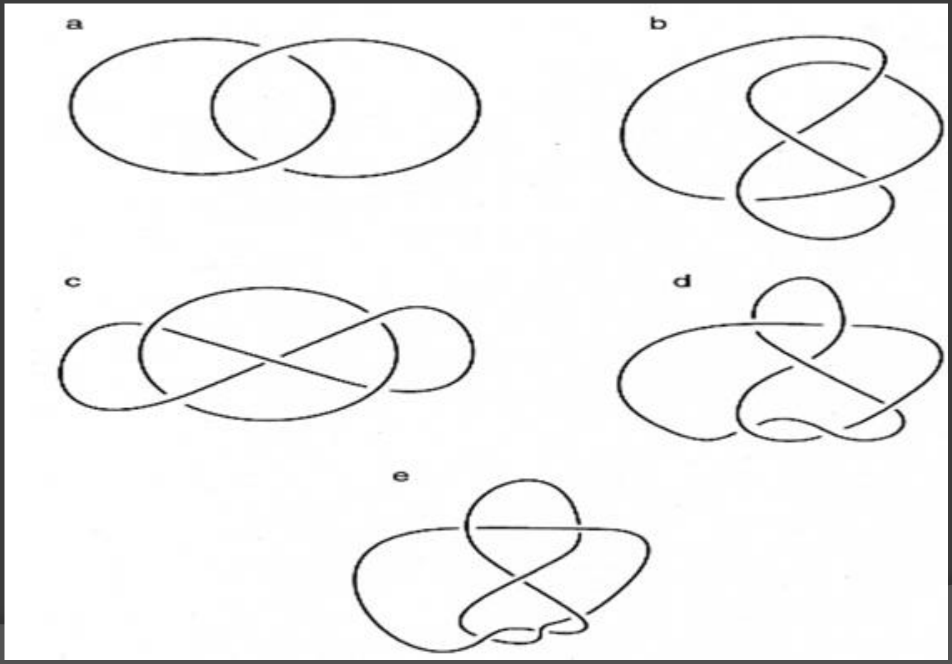
‘Ενα μικρό παράδειγμα:

- Οι διαπλοκές R=[1]+$\frac{1}{[2]}$, S=[-3] δεν είναι ισοτοπικές μίας και έχουν διαφορετικά κλάσματα : F(R)=1+$\frac{1}{2}$ = $\frac{3}{2}$ F(S)= -3= $\frac{3}{-1}$
- Αλλά έχουν ισοτοπικούς αριθμητές

N(R)~N(S) και 2=-1(mod3)

Αμφιχειρία κόμβων

- Μία άλλη ιδιότητα μεγάλης βιολογικής σημασίας είναι η **<u>αμφιχειρία (chirality).</u>** ‘Ενας κόμβος που είναι ισοτοπικός με την κατοπτρική του εικόνα καλείται τοπολογικώς αμφίχειρας.



a),b)- achiral

c),d),e)chiral

Θεώρημα:

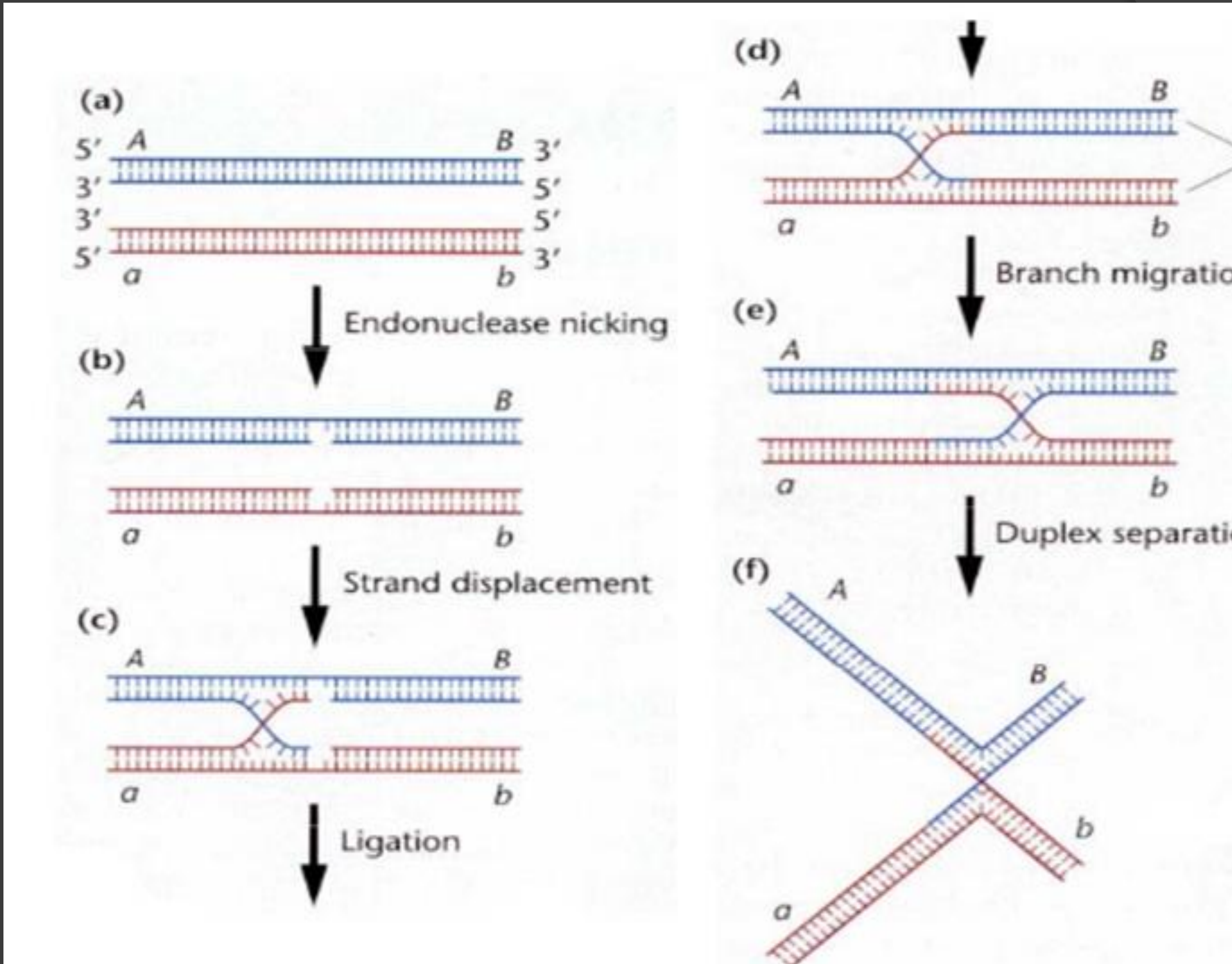
- ‘Εστω K=N(T) ενα μη προσανατολισμένο ρητό κόμβο ή σύνδεσμο που είναι αριθμητής μιας ρητής διαπλοκής T. Υποθέτω οτι F(T)=$\frac{p}{q}$, με p,q μεταξύ τους πρώτοι. Τότε K είναι αμφίχειρας αν και μόνο αν
- q^2=-1(modp). ‘Αρα οι αμφίχειροι ρητοί κόμβοι είναι όλοι αριθμητές ρητών διαπλοκών της μορφής [[α_1],[α_2],…[α_κ],[α_κ],…[α_1]] για οποιουσδήποτε ακεραίους α_1,…α_κ.Να σημειώσουμε οτι τα αριστερά [α_1] είναι οριζόντιες συστροφές ενώ τα δεξιά [α_1] είναι κατακόρυφες.

Η Τοπολογία του DNA:

- Το DNA έχει την μορφή της διπλής έλικας δηλαδή μπορεί να θεωρηθεί σαν δύο καμπύλες που διασταυρώνονται εκατομμύρια φορές.
- Υπό την επίδραση ενζύμων σε διάφορες λειτουργίες του κυττάρου, η διπλή έλικα αλλάζει μορφή και σχήμα.Κάποιες απο αυτές τις βασικές λειτουργίες είναι η αντιγραφή,μετάφραση, μεταγραφή και ο ανασυνδυασμός του DNA.

Ο ανασυνδυασμός

- Ο ανασυνδυασμός είναι ο τρόπος που η φύση διαθέτει για την αλλαγή της θέσης του γενετικού υλικού είτε μετακινώντας ένα κομμάτι DNA σε άλλη θέση μέσα στο κύτταρο είτε εισάγοντας ένα κομμάτι ξένου DNA σε έναν ξενιστή(ιούς)
- Παίζει κρίσιμο ρόλο στη δημιουργία μοριακής ποικιλομορφίας σε ενα πληθυσμό αλλά και στα αντισώματα και σε μερικά άλλα μόρια του ανοσοποιητικού συστήματος. Είναι δηλαδή μία αμοιβαία ανταλλαγή αλληλουχίων μεταξύ δύο μορίων DNA.



(a)
5′ A B 3′
3′ 5′
3′ 5′
5′ a b 3′
Endonuclease nicking
(b)
Strand displacement
(c)
Ligation
(d)
Branch migratio
(e)
Duplex separatic
(f)

Τοπολογικά:

- Στην παρακάτω εικόνα η διπλή έλικα του DNA είναι μία μόνο γραμμή και είναι σημειωμένες οι θέσεις ανασυνδιασμού.
- Αυτή η εικόνα μπορεί να ερμηνευτεί απο την σχέση N(S+[0])→N(S+[1]).

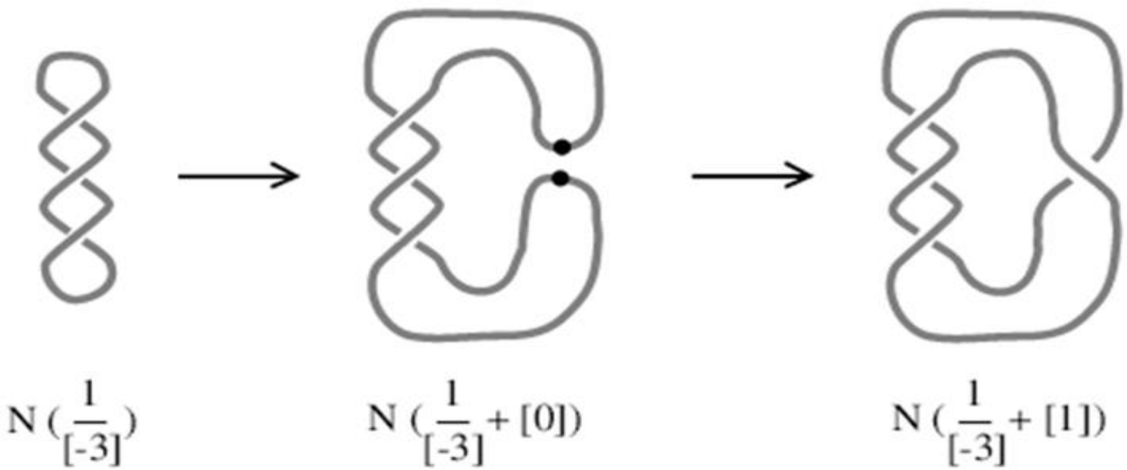


FIGURE 32. Global picture of recombination

- Δεν είναι καθόλου προφανής η τοπολογία και η γεωμετρία του ανασυνδυασμού του DNA.
- Με την μέθοδο επικάλυψης πρωτεϊνης ήταν δυνατόν για πρώτη φορά να δούμε (knotted DNA) DNA δεμένο με κόμβους στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο με αρκετή ανάλυση ώστε να ταυτοποιήσουμε τοπολογικά τον τύπο των κόμβων.
- Ακόμα και η μισή στροφή απο [0]→[+1] δεν είναι δεδομένο οτι δεν μπορεί να είναι και [0]→[-1]. Οι D.W Sumners και C.Ernst απέδειξαν την μοναδικότητα αυτής της στροφής [0] →[+1] και πρότειναν το μοντέλο “tangle model for successive DNA recombination”

The tangle model for successive DNA recombination

- Υποθέτουμε οτι η αρχική κατάσταση του DNA μπορεί να περιγραφεί απο τον αριθμητή N(S) μίας διαπλοκλής.
- Η τοπική γεωμετρία του ανασυνδυασμού περιγράφεται απο την αντικατάσταση μιας διαπλοκής [0] με μια άλλη συγκεκριμένη R.
- Το αποτέλεσμα πολλών συνεχών ανασυνδυασμών είναι κόμβοι και σύνδεσμοι της μορφής N(S+R)=K_1, N(S+R+R)=K_2,N(S+R+R+R)=K_3,…κλπ. Γνωρίζοντας τους κόμβους K_1,K_2,…είναι εύλογο το να θέλει κανείς να λύσει το σύστημα των εξισώσεων με S,R σαν άγνωστοι.

- Οι Ernst και Sumners χρησιμοποίησαν την ταξινόμηση των ρητών κόμβων για να αποδείξουν οτι οι S+nR λύσεις πρέπει να είναι ρητές διαπλοκές.Επίσης με την βοήθεια της ταξινόμησης μπορεί να αποδειχθεί η μοναδικότητα των S,R.
- Θα αναλύσουμε λίγο τις μαθηματικές τεχνικές για την επίλυση αυτών των εξισώσεων,γνωστές και ως **“DNA Knitting Machine Analysis”**.

Θεώρημα:

- ΄Εστω K_n μια σειρά απο ρητούς κόμβους και συνδέσμους που ορίζονται απο τις εξισώσεις N(S+nR)=K_n με συγκεκριμένους ακέραιους p,q,r (p>0) όπου R=[r] F(S)=$\frac{p}{q}$.
- Τότε τα $\frac{p}{q}$,r είναι μοναδικά αν γνωρίζουμε την τοπολογία των μη προσανατολισμένων κόμβων K_1,...K_N για οποιονδήποτε ακέραιο N$\geq$ $|q|$ - $\frac{p}{q^r}$.

Μία ειδική περίπτωση:

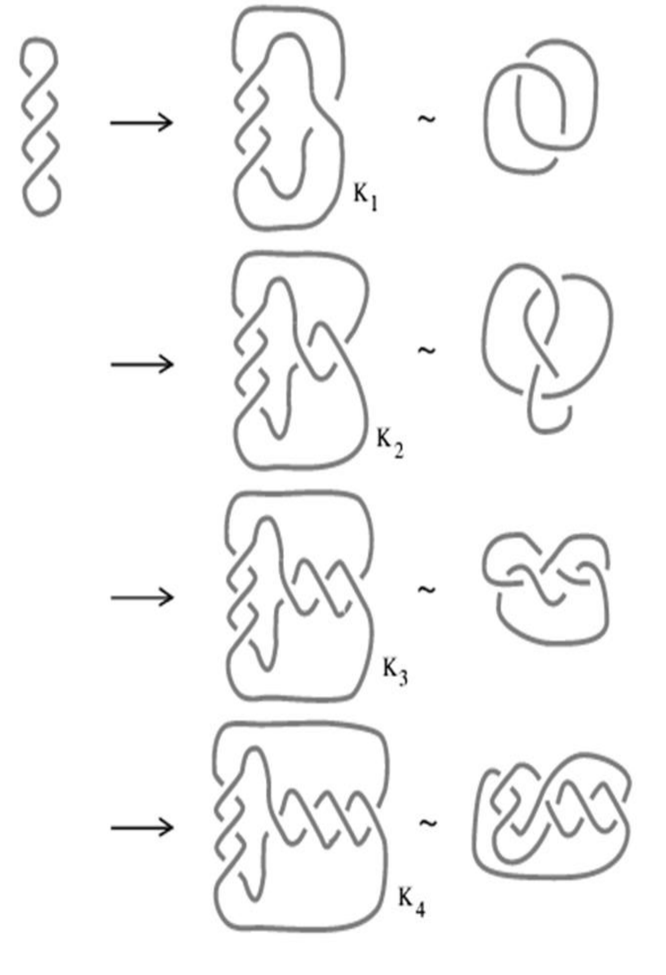


FIGURE 33. Multiple recombinations

- Υποθέτω οτι έχω μια σειρά απο κόμβους K_n έτσι ώστε:

$$\mathrm{K}_n = \mathrm{N}\left(\frac{\mathbf{1}}{[\mathbf{-3}]}+[1]+[1]+\ldots+[1]\right)=\mathrm{N}\left(\frac{\mathbf{1}}{[\mathbf{-3}]}+n[1]\right)$$

΄Αρα έχουμε

- $F\left(\frac{1}{[-3]} + n[1]\right) = \frac{3n-1}{3}$ n=1,2,…
- Σύμφωνα με το θεώρημα γνωρίζοντας τους κόμβους $\{K_1,K_2,K_3,K_4\}$,στην δική μας περίπτωση, μας υποδεικνύουν τήν μοναδικότητα των ρητών διαπλοκών που προκύπτουν απο τους αριθμητές τους,δηλαδή τών $S=\frac{1}{[-3]}$ και R=[1].
- ‘Αρα $\frac{p}{q}=\frac{1}{-3}$ και r=1

Μία εφαρμογή

- Με αυτόν τον τρόπο ορίστηκε η δομή του ανασυνδυασμού T_{n3}
- Το T_{n3} είναι ένα συγκεκριμένο ένζυμο στην διαδικασία του ανασυνδυασμού του οποίου η δράση μελετήθηκε εκτενώς και τα αποτελέσματα είναι καθιερωμένα.

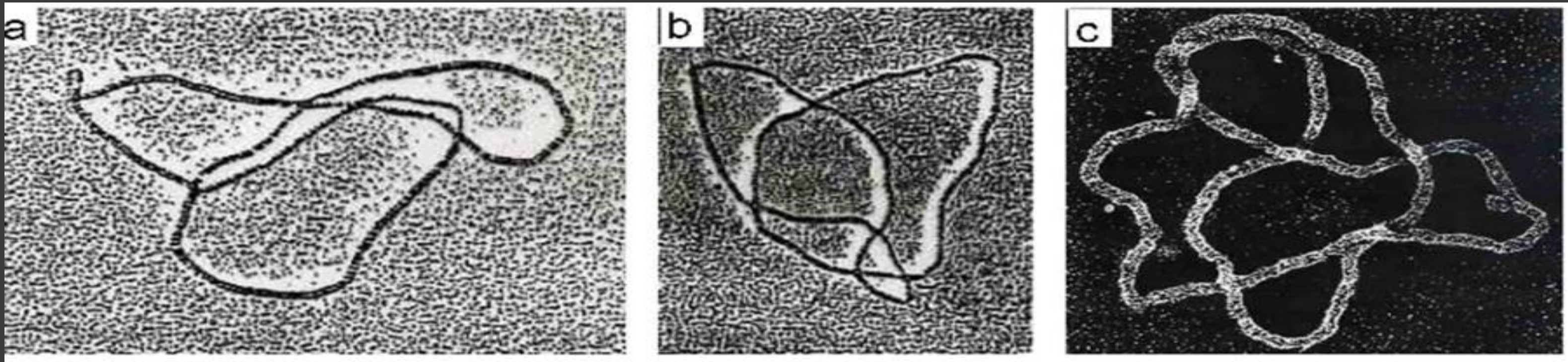


Figure 14: Electron Micrographs of RecA coated Tn3 Resolvase Recombination Products. (a) Figure 8 Knot (from [KS]), (b) +Whitehead Link (from [KS]), (c) 6_2^* (from [WD])