

Nudos en Biología

J. C. Gómez Larrañaga¹, H. Cabrera Ibarra²

¹ Centro de Investigación en Matemáticas, CIMAT

Apdo. Postal 402

Guanajuato, Gto.

México, C.P. 36000

jcarlos@cimat.mx

² División de Matemáticas Aplicadas, IPICYT

Apdo. Postal 3-74, Tangamanga

78231 San Luis Potosí, S.L.P.

México, C.P. 78231

cabrera@ipicyt.edu.mx

1. Introducción

En 1857, P. G. Tait se interesó en la teoría de H. Helmholtz acerca del comportamiento de los remolinos, o vórtices, de tipo anillo por lo que Tait comenzó a experimentar con anillos de humo y a analizar sus interacciones. Estos experimentos impresionaron mucho a Lord Kelvin, quien vio en ellos la posibilidad de explicar la estructura atómica y la forma en que se construían los distintos elementos. Por lo que en 1867 sugirió que los átomos podrían ser remolinos de tipo anillo en el éter (que se suponía era un fluido que llenaba el espacio), que estos remolinos tomaban formas anudadas y que las propiedades de la materia dependían de la forma en que se anudaban dichos remolinos, figura 1. Esta idea motivo a Tait a hacer un estudio extenso, así como a una tabulación, de los nudos en un intento por entender que significaba que dos nudos fueran “distintos” y así saber si tenían una relación con los elementos de la tabla periódica. Dicha motivación lo llevo a, en 1877, haber clasificado todos los nudos de hasta siete cruces. Estos fueron los principios de lo que, hoy por hoy, se conoce como la teoría de nudos; una rama muy activa de la topología.



Figura 1: ¿Trayectorias correspondientes a oxígeno, hidrógeno y carbono?

De entonces a la fecha ha habido un gran avance en cuanto a la clasificación de los nudos y se ha encontrado que resultados obtenidos en esta materia están relacionados con otras áreas de las matemáticas como Sistemas Dinámicos, Topología Algebraica y Teoría de Números, entre otras. Así mismo, en los últimos treinta años, se han encontrado puntos de contacto con áreas que, tradicionalmente, se han pensado ajenas a las matemáticas. Tal es el caso de Química [7], en donde se ha demostrado que las propiedades de la materia están íntimamente relacionadas a la estructura tridimensional de las moléculas, i.e. moléculas isómeras con diferentes configuraciones, o topologías, se pueden comportar como un gel con una y como un aceite con otra. En Nanotecnología recientemente se ha pensado que la teoría de nudos puede auxiliar en el análisis de ciertas nanoestructuras, [1], en las cuales se pueden formar nudos y se cree que el tipo de anudamiento influiría en la resistencia de la nanoestructura.

Otro caso es Biología, [2, 4, 15], en donde una aproximación al estudio de las enzimas, desde un punto de vista topológico, se ha venido dando desde los 80's al emplear la teoría de nudos para entender la forma de actuar, o mecanismo, de ciertas enzimas en moléculas de ácido desoxirribonucleico, ADN. Esto porque, de nueva cuenta, la estructura de las moléculas de ADN, influye en la manera en que éstas actúan en la naturaleza. En este artículo expositivo enfocaremos nuestra atención en esta parte, la cual se ha conoce como la “aproximación topológica a enzimología”, [5].

En la década de los ochentas, [2, 5], algunos biólogos moleculares se dieron cuenta de que, además de la conocida molécula lineal de ADN, ésta podía tomar una forma cerrada *in vivo*, formando con esto una molécula de ADN anudada. Aunado a esto, se encontró que la estructura 3-dimensional de la molécula influía en su función dentro de la célula, [5], i.e., dos moléculas circulares anudadas de ADN podían tener distintas funciones si la topología asociada a cada molécula no es la misma. En [9], por ejemplo, se destaca la importancia del superenrollamiento en transacciones de ADN como recombinación de sitio específico, transposición, transcripción e iniciación de la síntesis de ADN.

Un ejemplo de la importancia de la topología de las moléculas de ADN, es que los enlaces entre las moléculas de ADN concatenadas, o catenanos, tienen que ser completamente eliminados con el fin de que se pueda llevar a cabo la partición de los cromosomas. Otro ejemplo es [5], en donde fue analizado el anudamiento del ADN producido por la Topoisomerasa I del *E. coli* y la forma como ésta actúa; como resultado se probó que se produce cada nudo, desde el punto de vista biológico, teóricamente posible. De igual manera que la Topoisomerasa I, existen otras enzimas (topoisomerasas y recombinasas) que manipulan topológicamente al ADN para que algunos procesos vitales puedan llevarse a cabo. Desafortunadamente, los cambios efectuados por las enzimas, por el momento, no pueden ser observados *in vivo*, por lo que es necesario utilizar métodos indirectos para detectarlos y poder deducir el mecanismo de cómo estos cambios se producen. Debido a esto, se pensó que si estos cambios se realizaran en moléculas circulares se detectarían con mayor facilidad, al existir la posibilidad de que se formaran nudos de distintos tipos, lo cual resultó cierto. Como los productos de la acción de las enzimas fueron nudos y catenanos, fue fácil identificarlos al usar electro-micrografías y así se pudo proponer modelos de los mecanismos que emplean diversas enzimas.

Un pionero en aplicar la teoría de nudos en biología fue De Witt Sumners, [13, 14]. En [14] Sumners explica que, después de ver los nudos que resultaban en los experimentos con algunas enzimas, pensó que era posible aplicar teoría de nudos para entender mejor su forma de actuar en el ADN. Así que discutió sus ideas con los biólogos moleculares Nicholas Cozzarelli y Sylvia Spengler con quienes publicó los resultados obtenidos de estas ideas, [13]. En [14], Sumners menciona “me di cuenta de que, si los ovillos involucrados fueran racionales y los productos fueran 4-mallas, en ciertos casos se podría manipular los símbolos que clasifican a los ovillos para resolver las ecuaciones propuestas por los experimentos del ADN”. Costó mucho trabajo probar que sus ideas eran correctas y, para lograrlo, fue necesario el uso de resultados matemáticos no elementales como la propiedad R , el teorema de cirugía cíclica y el teorema del complemento de un nudo.

En [6] Ernst y Sumners proponen un modelo, llamado Modelo de Ovillos, que explica cómo es la acción de la enzima Tn3; el mecanismo deducido del modelo concordaba con el ya propuesto por biólogos, pero una ventaja de este modelo es que podía ser aplicado a otras enzimas. También se muestra el enfoque topológico usado para resolver el problema de modelar la Tn3, el cual está basado en la idea de que el mecanismo de una enzima puede ser deducido al conocer tanto el sus-

trato como los productos obtenidos después de la acción de la enzima en cuestión.

Un enfoque diferente para hallar el posible mecanismo de una topoisomerasa fue dado en [4]. En donde se da una métrica definida en nudos y enlaces y, usando el hecho de que la topoisomerasa al actuar en ADN circular produce exclusivamente nudos de los llamados toroidales, se muestran las posibles soluciones para la acción de la topoisomerasa en cuestión y se concluye que existe un único mecanismo posible.

Una meta importante de esta exposición es mostrar la manera en que se dió esta interacción entre biología y matemáticas en el Modelo de Ovillos. Aunque antes de esto daremos algunos conceptos preliminares de biología.

2. Preliminares

La molécula de ADN dúplex consiste de dos cadenas helicoidales constituidas de azúcar y fósforo, además, adherida a cada molécula de azúcar está uno de los cuatro nucleótidos base: Adenina, Citosina, Guanina y Timina; se puede pensar en el ADN como dos cuerdas entrelazadas que, a su vez, pueden estar enlazadas con otras moléculas de ADN. El ADN es el responsable de almacenar la información genética que es transmitida de un ser a su descendiente. Para darnos una idea de que tan enrollado debe de estar el ADN dentro de la célula basta decir que es equivalente a poner dentro de un balón de fútbol unos doscientos kilómetros de hilo para pescar.

Cuando enzimas del tipo recombinasas o topoisomerasas actúan en el ADN circular, usualmente promueven al menos uno de los siguientes estados: superenrollamiento, concatenación y/o anudamiento, en particular aquí trabajaremos con recombinasas. Dado que la estructura de las moléculas de ADN es importante se planteó la siguiente pregunta: ¿puede ser determinado el mecanismo de una enzima con sólo analizar los cambios topológicos inducidos en la molécula?. Para responder a ésta se han propuesto modelos de cuál es el mecanismo que siguen distintas enzimas, algunos de ellos con gran éxito.

Para detectar los cambios promovidos por una enzima en el ADN se crea en el laboratorio (*in vitro*) sustrato de ADN circular construido vía clonación, de tal manera que las moléculas del sustrato contienen la estructura deseada para que la enzima actúe y se produzca la reacción buscada. Después de que la enzima actúa en el ADN se producen en él cambios topológicos y/o geométricos, los cuales pueden ser observa-

dos mediante ciertas técnicas, como centrifugación o gel electroforesis, con éstas se logra una separación de los productos de tal manera que moléculas que tienen el mismo número de cruces se agruparán y aquellas que tengan un número distinto se separarán. Una vez separados los productos se usa microscopía electrónica para determinar con exactitud el tipo de los nudos y catenanos que se encuentran en cada banda, obteniendo de esta manera los productos de la acción de la enzima.

Es importante resaltar que, en cualquier modelo, se asumen ciertas propiedades que simplifican; en este caso se asume que el mecanismo de la acción de la enzima es constante, es decir, que la enzima siempre hace lo mismo; también asumimos que la acción es independiente de la geometría y la topología del sustrato.

3. Ovillos

El Modelo de Ovillos involucra los objetos matemáticos llamados ovillos o, en general, n -ovillos. Los ovillos estos son bloques a partir de los cuales se pueden construir nudos y enlaces, y han probado ser una herramienta matemática muy útil, [3, 8]. A continuación daremos algunas características de estos que nos serán de utilidad para el desarrollo del modelo.

Un n -ovillo es una pareja (\mathbb{B}^3, T) , en donde \mathbb{B}^3 es la bola unitaria en \mathbb{R}^3 y T es un conjunto de n arcos propiamente encajados en \mathbb{B}^3 , en la figura 2 se da un ejemplo de 2-ovillo. Dado que aquí trabajaremos en su mayoría con 2-ovillos diremos sólo ovillos para referirnos a ellos; también escribiremos sólo T en lugar de escribir (\mathbb{B}^3, T) . Además, en lugar de trabajar con ellos en \mathbb{B}^3 , trabajaremos con lo que se conoce como *diagrama de ovillo* asociado a T , el cual es la proyección de sus arcos en el plano YZ , tal y como se muestra en la figura 3.

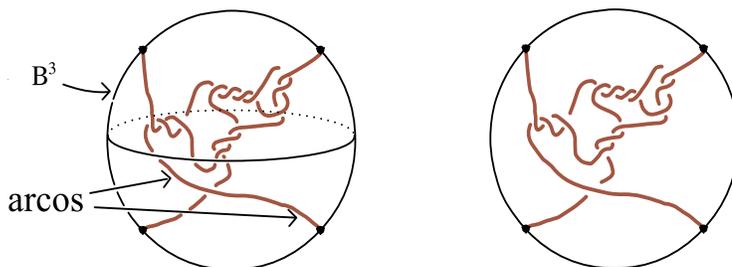


Figura 2: Ejemplo de un ovillo y su diagrama correspondiente

Se dice que dos ovillos A y B son *equivalentes* (o iguales) si existe una isotopía de \mathbb{B}^3 en sí misma que deja la frontera fija y lleva A en B , esto es, A y B son equivalentes si podemos, sin romper, deformar los arcos de A y sobreponerlos en los de B . En la figura 3 se muestran 3-ovillos equivalentes. En particular, dos ovillos son equivalentes sí, y sólo sí, podemos pasar de un diagrama de A a un diagrama de B usando para ello una sucesión finita de movidas de Reidemeister, mostradas en la figura 4. Es importante notar que las movidas de Reidemeister son proyecciones, antes y después, de deformaciones efectuadas en el oville en \mathbb{B}^3 .

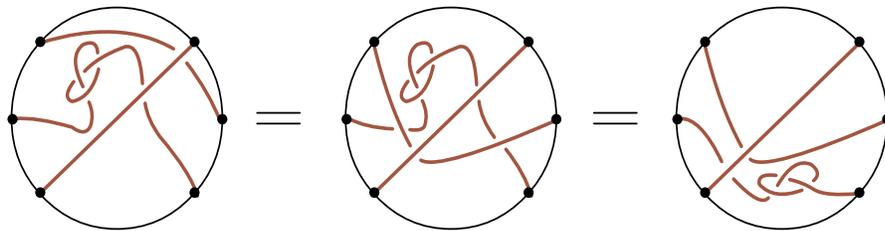


Figura 3: Ejemplo de 3-ovillos equivalentes

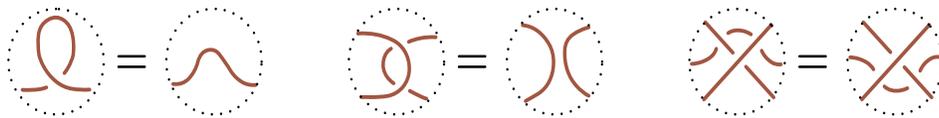


Figura 4: Movidas de Reidemeister

Existen construcciones que se pueden hacer a partir de ovillos que serán de utilidad en el objetivo de entender el Modelo de Ovillos. Utilizando estas construcciones, dados un par de ovillos A y B , se pueden obtener nudos, enlaces u otro oville; una de ellas es la *suma de los ovillos* A y B , la cual produce un oville, también se tienen el *numerador* y el *denominador* de un oville A , denotados $N(A)$ y $D(A)$ respectivamente, de éstas se obtiene un nudo o enlace. También se pueden hacer combinaciones de dichas construcciones, como $N(A + B)$. Estas construcciones se muestran en la figura 5.

En este trabajo es de gran importancia la familia de ovillos racionales ya que todos los nudos y enlaces más sencillos, como los que aparecen como el producto de la acción de enzimas en el ADN, se pueden obtener como el numerador de un oville racional. Un oville es racional sí, mediante una isotopía que puede mover la frontera de \mathbb{B}^3 , puede ser



Figura 5: Construcciones a partir de ovillos: suma, numerador, denominador y numerador de una suma

llevado a cualquiera de los ovillos mostrado en la figura 6, nótese que si A y B son ovillos racionales el ovillo $A + B$ no necesariamente es racional.

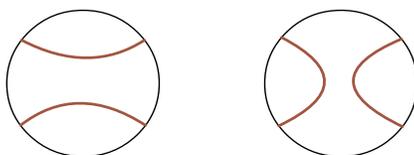


Figura 6: Los ovillos 0 e ∞ , respectivamente.

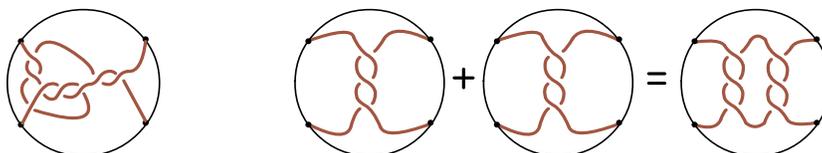


Figura 7: Ovillo racional y un ejemplo de que la suma de ovillos racionales puede no ser racional

La familia de los ovillos racionales ha sido extensamente estudiada, en [8] es clasificada completamente al demostrar que existe un correspondencia biyectiva entre los números racionales extendidos, $\mathbb{Q} \cup \{\infty\}$, y los ovillos racionales, esto es, a dos ovillos se les asocia el mismo número racional sí, y sólo sí, son ovillos equivalentes. Por ejemplo, en el caso de los ovillos mostrados en la figura 6 se les asocia los símbolos 0 e ∞ ; si el número es un racional, el ovillo asociado a él puede ser construido a partir de la expansión del número racional como fracción continua. En este sentido, las fracciones continuas determinan los diagramas de ovillos.

Los ovillos racionales están relacionados a la familia de nudos y enlaces de dos puentes llamados 4-mallas, por lo que también se le conoce a esta familia como nudos racionales. Es más, cualquier 4-malla se puede ver como el numerador de un ovillo racional, en la figura 8 se muestran

algunos ejemplos de esto. En particular, los ovillos racionales tienen la siguiente propiedad usada en el Modelo de Ovillos: *Dados dos ovillos racionales A y B se tiene que el numerador $N(A + B)$ es una 4-malla.* La familia de las 4-mallas también ha sido completamente clasificada [10] y existe una representación por medio de vectores con entradas enteras $\prec a_1, a_2, \dots, a_{2n+1} \succ$, donde los enteros a_i determinan el tipo del nudo o enlace y están asociados al número de cruces del nudo. Es importante notar que cada 4-malla tiene al menos dos representaciones por vector, por ejemplo $\prec 2, 1, 1 \succ = \prec 1, 1, 2 \succ$.

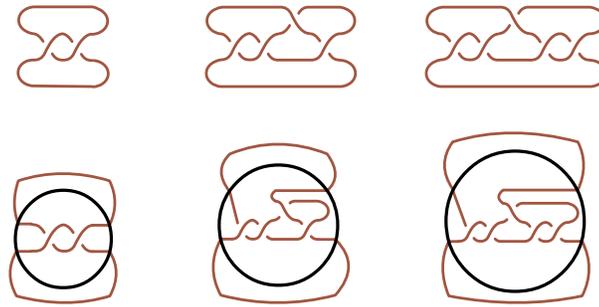


Figura 8: Las 4-mallas $\prec 2 \succ$, $\prec 2, 1, 1 \succ$ y $\prec 2, 1, 2 \succ$, respectivamente, vistas abajo como el numerador de un ovillo racional.

En caso de que se quiera profundizar en el estudio de ovillos se puede consultar [10].

4. El modelo de ovillos

Una característica clave de la recombinación que dió lugar al Modelo de Ovillos fue que al usar microscopía electrónica se observó que, dependiendo de la enzima, al actuar en una molécula circular de ADN se tenía una burbuja con dos o tres arcos saliendo de ésta. Matemáticamente, se puede pensar en la burbuja como la bola \mathbb{B}^3 , además, como el sustrato es circular y hay dos o tres arcos saliendo de la bola, se concluye que en el interior de la bola existen dos o tres arcos, lo que da lugar a pensar en 2-ovillos ó 3-ovillos. También se notó que los productos de las reacciones entre enzima y molécula pertenecen a la familia de las 4-mallas.

Veamos una simplificación de la acción de las enzimas de recombinación en sitio específico: a la molécula original llamada *sustrato*, la cual es circular y no anudada, se le hace entrar en contacto con la enzima;

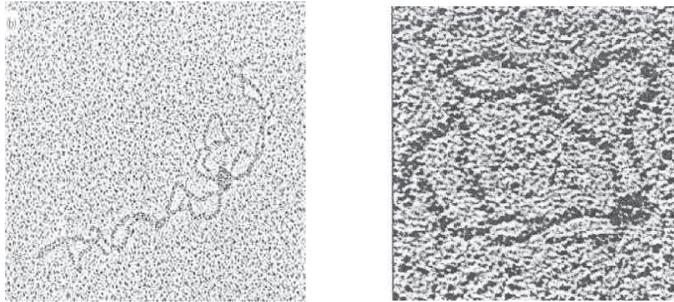


Figura 9: Enzimas actuando en ADN (fotos extraídas de [11] y [15])

ésta se aproxima al sustrato, el cual sufre cambios como retorcimiento, lo que permite que en el caso de las recombinasas se lleve al cabo el alineamiento de ciertos *sitios específicos*. La enzima se adhiere al sustrato para actuar en él y después libera a la molécula, la cual posiblemente ha sufrido, cambios en su topología. A la molécula obtenida después de la acción de la enzima se le llama *producto*. Al conjunto de la enzima adherida a la molécula se le llama *complejo sináptico*, y al complejo sináptico sin los arcos no rodeados por la enzima se le llama *sinaptosoma*. El sinaptosoma se puede pensar como compuesto por dos partes, donde la enzima actúa y donde no. En el modelo se supone que ambas partes son ovillos por lo que el sinaptosoma se puede ver como suma de ovillos tal y como se muestra en la figura 10; y así la acción de la enzima se modela como una cirugía de ovillos, esto es, un ovillo es reemplazado por otro.

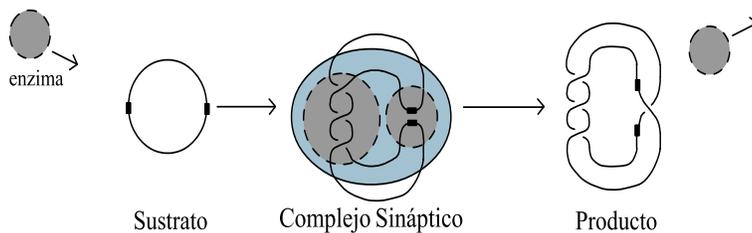


Figura 10: Esquema de la acción de una enzima.

El proceso anterior es similar para varias enzimas de la familia de las topoisomerasas y recombinasas (Int, Tn3 resolvasa, Gin, Gyrase, Topoisomerasa I, etc.). En cada una de ellas se puede aplicar un modelo que involucre ovillos y que tome en cuenta las características propias de la enzima.

Ya que es posible conocer los productos obtenidos después de que una enzima actúa en ADN después de una vez, de dos veces, etc., es biológicamente razonable modelar esto como:

$$\begin{aligned} N(S + O) &= \text{nudo trivial}, \\ N(S + T) &= \text{primer producto}, \\ N(S + T + T) &= N(S + 2T) = \text{segundo} \end{aligned}$$

producto, etc.

donde S, O y T son ovillos. El ovillo S es la parte donde la enzima no actúa, por lo que permanece sin cambio después de cada acción de la enzima; el ovillo O es la parte en donde se va a llevar a cabo la acción y el ovillo T reemplaza al ovillo O después de que la enzima ha actuado en la molécula.

Dado que el sustrato con el que se inicia es el nudo trivial tenemos que $N(S + O)$ es el nudo trivial y al primer producto después de un encuentro entre enzima y molécula se le puede pensar como $N(S + T)$. Similarmente, si la enzima vuelve a actuar en $N(S + T)$, se asume que el segundo producto será $N(S + T + T) = N(S + 2T)$ y así sucesivamente.

En ocasiones, dependiendo de la enzima, los productos obtenidos pertenecen a una familia de nudos o enlaces ya clasificada, por ejemplo la de las 4-mallas, así como los ovillos involucrados O, S y T pertenecen en este caso a los ovillos racionales. Si los nudos, enlaces u ovillos, pertenecen a una familia no clasificada del todo, se hace necesario clasificar topológicamente la familia para poder proponer un modelo.

Resurge entonces la pregunta, ¿es posible, conociendo la topología tanto del sustrato como del producto de varias recombinaciones, deducir el mecanismo de actuación de la enzima?. En la siguiente sección aplicaremos el Modelo de Ovillos al caso de la enzima Tn3 aunque cabe resaltar que cálculos similares se han hecho para otras enzimas [3, 16].

5. Utilizando el modelo de ovillos

La enzima Tn3 actúa en el sustrato mediante recombinación de sitio específico y los resultados obtenidos en experimentos hechos usando esta enzima se muestran en la figura 11. Al suponer que el mecanismo de la enzima es constante e independiente de la geometría y la topología del sustrato, se tiene que:

$$N(S + O) = \langle 1 \rangle = \text{nudo trivial},$$

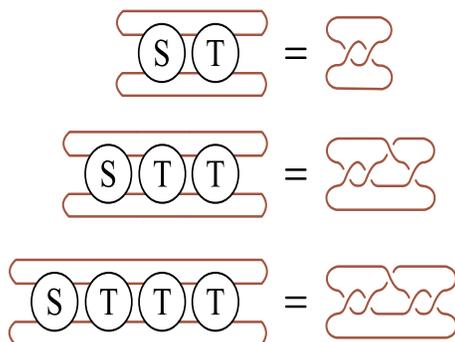


Figura 11: Productos obtenidos por la acción de la enzima Tn3 resolvasa.

$$N(S + T) = \langle 2 \rangle$$

$$N(S + T + T) = N(S + 2T) = \langle 2, 1, 1 \rangle$$

Dado que sólo en una ecuación se tiene al ovillo O , no es posible determinarlo con certeza, por lo que se determinan S y T ; en [6] se probó que:

Teorema 5.1. *Supóngase que los ovillos $\{O, S, T\}$ satisfacen las siguientes ecuaciones:*

$$N(S + O) = \langle 1 \rangle,$$

$$N(S + T) = \langle 2 \rangle,$$

$$N(S + 2T) = \langle 2, 1, 1 \rangle.$$

Entonces $\{S, T\} \in \{ \{(-3, 0), (1)\}, \{(3, 0), (-1)\}, \{(-2, -3, -1), (1)\}, \{(2, 3, 1), (-1)\} \}$.

Como resultado de añadir una ecuación más, proporcionada por el modelo, al sistema tenemos:

Teorema 5.2. *Suponga que los ovillos $\{O, S, T\}$ satisfacen las ecuaciones del teorema anterior y, además, la siguiente:*

$$N(S + 3T) = \langle 2, 1, 2 \rangle .$$

Entonces $\{S, T\} = \{(-3, 0), (1)\}$ y $N(S + 4T) = \langle 1, 2, 1, 1, 1 \rangle$.

La predicción del teorema 2 fue confirmada experimentalmente, lo cual dio evidencia de que el modelo es válido. Algunos seguidores de Sumners [3, 16] han continuado con su línea de investigación analizando otras enzimas.

Existen enzimas que dejan tres hebras fuera del sinaptosoma, como Gin, Flp, Int lambda, en este caso no puede ser aún aplicado directamente el Modelo de Ovillos ya que la familia de los 3-ovillos racionales,

que se sospecha está involucrada, no ha sido completamente clasificada. Aunque se pueden hacer suposiciones de manera que a pesar de que la enzima no actúa en 2-ovillos se puede modelar pensando que así es. Este es el caso de [16], en donde se analiza a la enzima Gin al suponer que uno de los arcos involucrados no es alterado por la acción de la enzima; en dicho artículo, Vázquez da una respuesta a este problema que concuerda con la encontrada biológicamente. Por otro lado, en [3] se analiza la acción de la enzima Gin suponiendo que los 3-ovillos involucrados pertenecen a la familia de las 3-trenzas, ya clasificada, dicha suposición parece ser biológicamente razonable. Obteniendo con esto una familia infinita de soluciones, aunque la mayoría de ellas no se pueden tomar en cuenta debido a restricciones biológicas, pero las que son aceptables coinciden con [16].

6. Conclusiones

Aún existen muchas preguntas sin responder en este tema, una de ellas es, dado que la enzima realiza cambios locales, ¿cómo es que puede anudar y desanudar tan eficientemente? ya que parece no hacerlo al azar y que no tiene forma de saber la estructura global de la molécula. Esto es, ¿cómo es que cuando va a actuar por segunda vez en una molécula no hace el cambio de tal manera que deshaga lo hecho en su primer encuentro con ella?. Hay que recordar que el que una molécula este anudada es un estado no deseado.

La teoría de nudos puede ayudar a dilucidar los mecanismos, hasta ahora desconocidos, de varias enzimas que son indispensables para las células. Mencionaremos que en [17] se ha probado la existencia de una topoisomerasa que actúa en el RNA, por lo que es probable que se pueda hacer un análisis topológico que permita un mejor entendimiento de dicha topoisomerasa. En [12] se ha hecho un análisis *in vivo* de ciertos nudos de ADN que aparecen en las burbujas de replicación en plásmidos bacterianos ya que, al determinar los tipos de nudos de ADN formados, es posible conocer más del mecanismo que lleva a la formación de los mismos.

Los autores quieren agradecer a los revisores por las valiosas ideas que aportaron y que ayudaron a mejorar considerablemente la lectura del mismo. Así mismo, agradecen el apoyo del CONCYTEG a través del proyecto con convenio No. 06-02-K117-84.

Referencias

- [1] R. Baughman, *Knotty Carbon Nanotube Yarns*. Talk held in Knots in Biological Sciences: A Workshop. University of Texas at Dallas, April 28, 2005
- [2] P. O. Brown, N. R. Cozzarelli, *Catenation and knotting of duplex DNA by type 1 topoisomerases: a mechanistic parallel with type 2 topoisomerases*. Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1981 Feb;78(2) pp. 843-847
- [3] H. Cabrera. *On the clasification of rational 3-tangles*, Journal of Knot Theory and its Ramifications, 12 (7) (2003) pp. 921-946.
- [4] I. K. Darcy, D. W. Sumners. *Applications of topology to DNA*, Banach Center Publ. 42 (1998), pp. 65-75.
- [5] F. B. Dean, A. Stasiak, T. Koller, N. R. Cozzarelli. *Duplex DNA Knots Produced by Escherichia coli Topoisomerase I*. J. Biol. Chem. 260, pp. 4975-4983.
- [6] C. Ernst, D. W. Sumners. *A calculus for rational tangles: applications to DNA recombination*. Math. Proc. Camb. Phil. Soc. 108. pp. 489-515.
- [7] E. Flapan. *When Topology Meets Chemistry: A Topological Look at Molecular Chirality*. New York: Cambridge University Press, 2000.
- [8] J. R. Goldman, L. H. Kaufmann, *Rational Tangles*, Adv. in App. Math., 18, (1997), pp. 300-332.
- [9] R. Knaar, N. R. Cozzarelli. *Roles of supercoiled DNA structure in DNA transactions*. Current Opinion in Structural Biology, (1992) 2, pp. 369-379.
- [10] K. Murasugi, *Knot Theory and Its Applications*, Birkhäuser, Boston, (1996).
- [11] P. D. Sadowski. *Site-specific genetic recombination: hops, flips, and flops*. FASEB J. 1993 Jun; 7(9): pp. 760-767.
- [12] J. M. Sogo, A. Stasiak, M. L. Martínez-Robles, D. B. Krimer, P. Hernández, J. B. Schwartzman. *Formation of knots in partially replicated DNA molecules*, J. Mol. Biol. (1999) 286, pp. 637-643.

- [13] D. W. Sumners, C. Ernst, S. J. Spengler, N. R. Cozzarelli. *Analysis of the mechanism of DNA recombination using tangles*. Quarterly Review of Biophysics 28, 3. pp. 253-313.
- [14] D. W. Sumners,(1988). *Using knot theory to analyze DNA experiments*. In New Theoretical Concepts in Physical Chemistry. NATO ASI Series (Kluwer Academic Publishers) pp. 221-232.
- [15] D. W. Sumners, *Lifting the Curtain: Using Topology to Probe the Hidden Action of Enzymes*. In Notices of the AMS (42, 5), pp. 528-537.
- [16] M. Vazquez, D. W. Sumners, *Tangle Analysis of Gin recombination*, Math. Proc. Camb. Phil. Soc. (2004) 136 pp. 565-582.
- [17] H. Wang; R. J. Di Gate, N. C. Seeman. 1996. *An RNA Topoisomerase*. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 93: pp. 9477- 9482.