

Desvelando El Papel De KIF2C En La Progresión Y Detección Temprana Del Cáncer De Mama A Través Del Modelamiento Matemático De La Red De Regulación Génica.

Alejandro Prado Echeverri¹, Diana Carolina Clavijo^{1 2}, Mauricio Alberto Quimbaya¹

¹ Programa de Biología, Departamento de Ciencias Naturales y Matemáticas. Facultad de Ingeniería y Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana Cali. ² Instituto de Investigación en Ciencias Ómicas - iOMICAS. Pontificia Universidad Javeriana Cali

Resumen

El cáncer de mama representa una de las principales causas de mortalidad en mujeres a nivel mundial, por lo cual es de importancia estudiar y entender cómo se lleva a cabo la progresión tumoral a nivel celular para proponer algunos mecanismos que permitan un diagnóstico temprano o un tratamiento dirigido. En esta investigación se realizó un enfoque desde la biología de sistemas para modelar matemáticamente la red de regulación génica del gen KIF2C, una kinesina implicada en la dinámica de los microtúbulos y en la estabilidad genómica durante la mitosis y que se presume está involucrado en la progresión del cáncer de mama. Se construyó un modelo utilizando herramientas como CellDesigner bajo los estándares SBML, SBGN, empleando una cinética elemental y bajo la aproximación de la ley de acción de masas. El modelo se construyó y alimentó con base a la información reportada en bases de datos bibliográficos y biológico tales como KEGG, Reactome y Gene Ontology, PUBMED, entre otras. El modelo construido contiene 1714 reacciones y permite simular escenarios de sobreexpresión de KIF2C y su impacto en procesos biológicos como; la apoptosis, el ensamblaje del cinetocoro, la condensación y segregación cromosómica, la proliferación celular y el punto del ensamblaje del huso, el punto de control del daño del DNA, el ciclo celular, la organización del citoesqueleto y citogénesis y la mitosis. Los resultados revelan que la sobreexpresión de KIF2C podría provocar inestabilidad cromosómica, la cual se asocia con el desarrollo y progresión del cáncer de mama, especialmente en su subtipo triple negativo. Esta investigación sugiere que KIF2C podría representar un biomarcador diagnóstico y un blanco terapéutico en este tipo de cáncer.

Abstract

Breast cancer represents one of the leading causes of mortality among women worldwide, making it essential to study and understand tumor progression at the cellular level in order to

propose mechanisms for early diagnosis or targeted treatment. In this research, a systems biology approach was employed to mathematically model the gene regulatory network of the *KIF2C* gene—a kinesin involved in microtubule dynamics and genomic stability during mitosis, and which is presumed to play a role in breast cancer progression. A model was constructed using tools such as CellDesigner, following SBML and SBGN standards, employing elementary kinetics under the mass action law approximation. The model was built and informed based on data reported in bibliographic and biological databases such as KEGG, Reactome, Gene Ontology, and PubMed, among others. The resulting model includes 1,714 reactions and allows for the simulation of *KIF2C* overexpression scenarios and their impact on biological processes such as apoptosis, kinetochore assembly, chromosome condensation, cell proliferation, spindle assembly checkpoint, chromosome segregation, DNA damage checkpoint, cell cycle, cytoskeleton organization and cytokinesis, and mitosis. The results reveal that *KIF2C* overexpression may lead to chromosomal instability, which is associated with the development and progression of breast cancer, particularly in the triple-negative subtype. This study suggests that *KIF2C* could serve as a diagnostic biomarker and therapeutic target in this type of cancer.

Introducción

El cáncer de mama es una enfermedad de alta incidencia y la principal causa de fallecimiento entre la población femenina a nivel global, con una tasa anual de casos alrededor de 1.7 millones, [6].

La compleja etiología de este tipo de cáncer involucra diversos factores, en los que se destacan, el envejecimiento, las particularidades mamarias, los patrones reproductivos y las mutaciones genéticas. Considerando su amplio espectro molecular e histológico el cáncer de mama se puede clasificar en diferentes subtipos los cuales son; luminal A, luminal B, HER 2 positivo y cáncer de mamá triple negativo (TNBC), cada uno con sus propias características

moleculares y receptores hormonales como los receptores de estrógeno positivos (ER+) y receptores de progesterona positivos (PR+) [6].

La inmunidad antitumoral surge como un componente vital en la lucha contra el cáncer de mama. Células clave como las células asesinas naturales (NK), los linfocitos y las células T CD8+, las cuales tienen la capacidad de acabar con las células tumorales. No obstante, el contexto del tumor puede llegar a limitar su eficacia, lo que no deja más que deslumbrar la gran necesidad que existe en comprender como funciona la interacción entre el sistema inmunitario y el cáncer de mama [6].

La propagación descontrolada del cáncer de mama de cerca de 2.3 millones de nuevos casos

reportados en 2020, evidencia la necesidad de lograr identificar nuevos biomarcadores y estrategias terapéuticas. Durante la última década, los obstáculos encontrados en el tratamiento, la resistencia a los medicamentos y la dificultad de su pronóstico, han resultado en la necesidad de explorar nuevas vías terapéuticas enfocadas en mecanismos moleculares subyacentes en su patogénesis. Esta comprensión se vuelve crítica para el desarrollo de nuevas estrategias más eficaces y personalizadas que permitan tanto su detección como su tratamiento [7].

Las kinesinas, son una superfamilia de proteínas motoras que cumplen una función de suma importancia como transportadoras intracelulares en los microtúbulos del citoesqueleto. Su capacidad para conducir cargas diversas como orgánulos, complejos proteicos y mRNA a lo largo de los microtúbulos, todo dependiendo de ATP, no solo ayuda en la morfogénesis celular y en diversos procesos biológicos en la mitosis y meiosis, sino que también se extiende a funciones como la memoria, el aprendizaje y la asimetría izquierda-derecha [6].

Dentro de la familia de kinesinas, se destaca el miembro 2C (KIF2C), que se caracteriza por su participación tanto en la dinámica precisa de los husos mitóticos como en la regulación del rompimiento de la doble cadena del ADN. La regulación de KIF2C es crucial para poder prevenir la transformación maligna relacionada con cambios en el contenido de ADN. Asimismo, cumple un papel crucial en la inestabilidad genómica ya que, regula la segregación

cromosómica durante la mitosis, su sobreexpresión favorece la proliferación celular y está asociada con la progresión del cáncer [7,8,9]. Se ha reportado que la eliminación de algunas kinesinas, como KIF2C, KIF3C, KIF22, KIF18A y KIF24, promueven la inhibición de la proliferación de células cancerígenas de mama, promoviendo la búsqueda de nuevas vías terapéuticas [6].

De igual manera, KIF2C participa en múltiples vías de señalización como las vías MEK/ERK, mTOR, Wnt/ β -catenina y tienen participación en la regulación del microambiente inmunológico del tumor [7,8,9].

La inestabilidad genómica se define como alteraciones del ADN: desde cambios de un único nucleótido hasta cambios en cromosomas completos, esta puede dividirse en tres categorías dependiendo de la alteración genética [3]. La primera es la inestabilidad de nucleótidos (NIN) que se caracteriza por presentar una mayor frecuencia de sustituciones de bases, deleciones e inserciones de uno o unos pocos nucleótidos. La segunda es la inestabilidad de microsatélites (MIN o MSI) el cual es el resultado de defectos en los genes de reparación de errores de apareamiento, que dirigen a la expansión y contracción de repeticiones cortas de nucleótidos llamados microsatélites; por último, está la inestabilidad cromosómica CIN, que se considera la forma más prevalente de la inestabilidad genómica y se caracteriza por los cambios en el número tanto como en la estructura de los cromosomas [3]. Si bien la inestabilidad es una

característica que se encuentra en la mayoría de los cánceres humanos, los genomas del cáncer si pueden presentar una variabilidad considerable, esta variabilidad puede ser tanto en la cantidad como en el tipo de inestabilidad genómica que albergan. Los fenotipos de la inestabilidad implican el pronóstico de la evolución tumoral en el paciente, así como en el manejo clínico y farmacológico que se debería realizar, especialmente al elegir agentes terapéuticos [3].

De acuerdo con lo anterior, la inestabilidad genómica se considera un promotor de la tumorigénesis, puesto que las constantes modificaciones de los genomas de las células tumorales causan la obtención de nuevas alteraciones del ADN, la evolución clonal y la heterogeneidad tumoral. Existen varias teorías sobre el origen de la inestabilidad genómica, entre las que se destacan; el fenotipo mutador, el estrés replicativo inducido por daño del ADN, la disfunción telomérica y el fallo del punto de control mitótico [3].

Dichos cambios se diferencian en (i) la suposición de que tan temprano se produce la inestabilidad en la tumorigénesis, (ii) los mecanismos que llevan a la alteración a nivel de secuencia y (iii) si la inestabilidad inicia la tumorigénesis, o no es más que una consecuencia de la transformación maligna de la célula. Aunque cada mecanismo presentado, puede promover la expresión de los fenotipos de la inestabilidad genómica [3].

Se estima que, en total entre el 60% y 80% de los tumores en humanos presentan anomalías

cromosómicas prometedoras de CIN. Y es que, la CIN se correlaciona positivamente con el estadio del tumor y se encuentra enriquecido tanto en las muestras de tumores periódicos, como metastásicos. Asimismo, las aneuploidías complejas y la poliploidía resultantes de la duplicación del genoma completo, son características de los tipos de tumores que tienen prevalencia por la metástasis, la resistencia al tratamiento y la disminución de la supervivencia general, como en los que se destaca para esta investigación el cáncer de mama triple negativo [4].

La gran capacidad de prevalencia de CIN no deja más que deslumbrar la gran cantidad de vías relevantes para el cáncer, cuya desregulación se ha implicado en la influencia de la segregación cromosómica mitótica, y es que según lo reportado en literatura la señalización oncogénica, el estrés de replicación pre-mitótica, y los defectos en la replicación del centrosoma, la cohesión de las cromátidas hermanas, la señalización del punto de control del ensamblaje del huso o las uniones de microtúbulos a los cromosomas inducen CIN. Además, entornos metastásicos pueden perturbar la fidelidad de la segregación cromosómica durante el periodo de la anafase [4].

Una proporción importante de los defectos que inducen CIN en el cáncer coinciden en un fenotipo mitótico en el que las células en anafase presentan cromosomas rezagados en la zona media del huso. Estos cromosomas se conocen como cromosomas rezagados y son resultado de

la unión errónea de los microtúbulos a los cinetocoros [4]. Otros signos de segregación cromosómica incorrecta durante la mitosis incluyen puentes de cromatina, puentes de ADN ultrafinos y fragmentos acéntricos, que no logran establecer uniones directas a los microtúbulos del huso [4]. Asimismo, la aneuploidía y las alteraciones cromosómicas estructurales a gran escala no son las únicas consecuencias que se pueden dar por causa del CIN y es que la segregación incorrecta de cromosomas puede conllevar a reordenamientos focales, pero altamente complejos conocidos como cromotripsis, la formación de cromosomas de doble minuto que son susceptibles de amplificaciones masivas del número de copias, así como ADN extra-cromosómico [4].

No obstante, a pesar de la amplia presencia de CIN en el cáncer humano, su papel en la evolución del tumor es sumamente compleja y técnicamente paradójica. Porque, por un lado, CIN y aneuploidías complejas se correlacionan con la resistencia a agentes antineoplásicos, como el taxol, tanto en líneas celulares derivadas de tumores como en entornos clínicos. Las lesiones metastásicas y las células tumorales circulantes muestran evidencia de CIN y una mayor heterogeneidad del número de copias cromosómicas. La segregación cromosómica incorrecta en tumores primarios se asocia con una mayor probabilidad de diseminación a distancia, recaída e independencia de oncogenes en el cáncer de mama [4]. Sin embargo, los niveles excesivos de CIN promueven una mayor

sensibilidad a terapias citotóxicas como cisplatino y 5-fluorouracilo (5-FU) en cáncer de mama [4].

La relación paradójica que existe se da por la complejidad de los fenotipos impartidos por CIN en las células cancerosas y en el microambiente tumoral, CIN genera heterogeneidad en el número de copias cromosómicas que promueve la selección natural mejorando la amplitud tumoral y facilitando la evasión inmunitaria mediante resistencia a fármacos y metástasis. De forma paralela los errores de segregación cromosómica imparten una serie de cargas celulares, en las que se incluyen la pérdida de material genético, la activación de la señalización del daño del ADN y el estrés proteotóxico, lo cual puede llegar a afectar la viabilidad, especialmente en células normales o diploides [4].

Durante la mitosis, el proceso de replicación y división del material nuclear permite que una célula madre de lugar a dos células hijas con copias genéticas exactas. En esta fase, en cambios significativos en la célula, como la condensación de la cromatina, la ruptura de la membrana nuclear, el ensamblaje del huso mitótico, la compresión y la segregación cromosómicas. La formación correcta del huso bipolar y la unión de los cromosomas a los microtúbulos, son prerequisites para que se dé una segregación precisa de los cromosomas, buscando la formación de un complemento cromosómico sin errores en ambas células hijas. Y es que la incapacidad de segregar fielmente los cromosomas en la mitosis es una de las causas de

inestabilidad cromosómica (CIN), causa que es un sello distintivo de los tumores sólidos [5].

Por último, la interrupción de la dinámica de los microtúbulos en el huso mitótico genera inestabilidad cromosómica mitótica, causada comúnmente por la unión mal orientada persistente de los cromosomas a los MT del huso. La dinámica de los microtúbulos, mediada por un crecimiento y un acortamiento altamente coordinado, controla tanto la biorientación cromosómica como la segregación durante la división celular. Los miembros de la familia kinesina-13 de los despolimerizadores de MT desempeñan un papel esencial en el control de la dinámica de los MT [5,6].

Debido a que la aparición del cáncer de mama en una célula es un fenómeno biológico con un grado de complejidad intrínseco y no puede ser completamente modelado predicho ni explicado, por lo que, se puede definir un modelo como una representación indefinida de objetos o procesos que posibilitan explicar sus características fundamentales [1].

La biología de sistemas es interdisciplinar de la ciencia que se encarga de explicar cómo las propiedades sistémicas y las diferentes interacciones dinámicas suceden dentro de sistemas biológicos complejos. Dicha área se encarga de combinar datos experimentales *in vitro* o *in vivo* con modelos matemáticos, así como la construcción de análisis cuantitativos y cualitativos, lo que resulta vital para entender y

predecir el comportamiento de los sistemas biológicos a diferentes escalas y contextos [1]. La anterior aproximación, se centra en el principio del mecanismo de evolución propio de los sistemas biológicos y la necesidad de un enfoque sistémico para poder comprender su comportamiento emergente

En ese sentido, los modelos determinísticos juegan un papel crucial puesto que, permiten predecir la evolución de un sistema en el tiempo a partir del estado actual, pero si se cumplen unos requisitos iniciales, el modelo debe contener la información necesaria para realizar dichas predicciones. Por ejemplo, las redes biológicas se guían a través de los modelos cinéticos que a su vez son guiados por la ley de acción de masas, esto cumple un papel de vital importancia al lograr establecer la relación entre las concentraciones de reactivos y productos en condiciones de equilibrio químico a una temperatura dada [2].

De manera conjunta, estas líneas de investigación permitirán profundizar en la comprensión del papel de KIF2C en la biología del cáncer de mama, principalmente en su influencia sobre la dinámica de los microtúbulos y el control que tiene este en el ciclo celular. El estudio de los mecanismos moleculares, su interacción con otras proteínas y rutas de señalización dará conocimiento fundamental, y podría abrir oportunidades terapéuticas orientadas a bloquear su función en contextos tumorales.

Metodología

Etapas: Curación manual de procesos e interacciones biológicas en la red de regulación de KIF2C

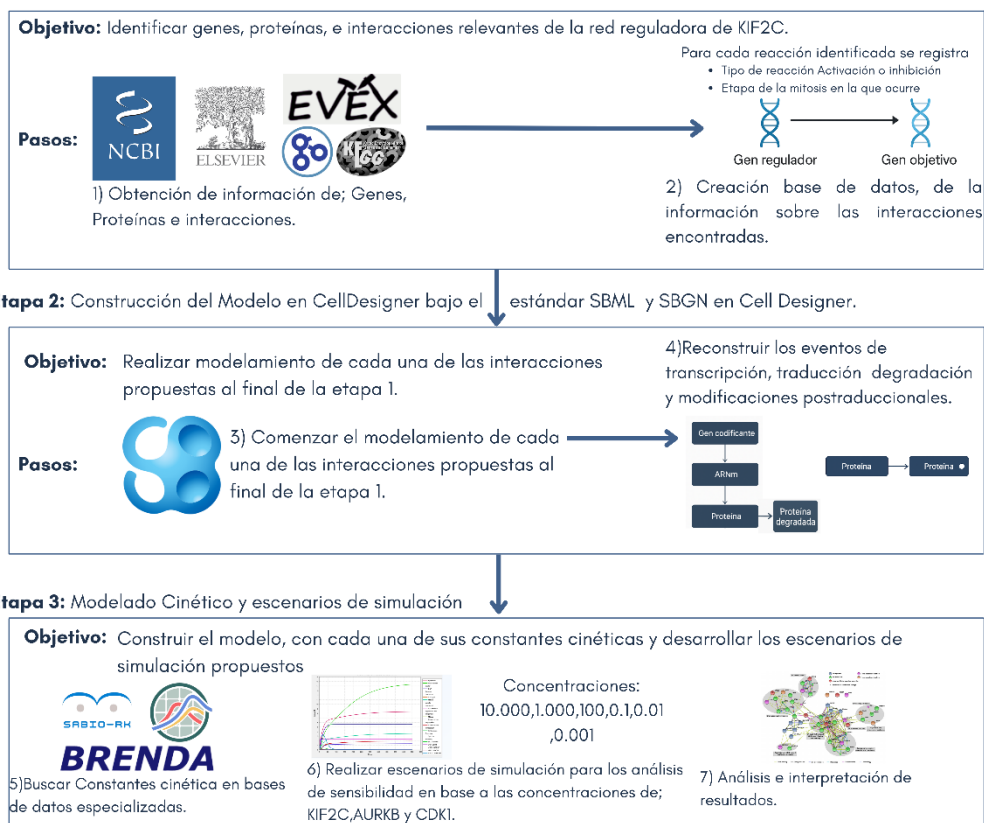


Figura 1. Esquema que describe los pasos metodológicos implementados para la realización de este trabajo. Se describen los pasos de manera general, así como los distintos softwares utilizados y algunas de las bases de datos utilizadas.

Minería de texto y curación manual de procesos e interacciones biológicas en la red de regulación KIF2C

Para la primera fase de la metodología se realizó una búsqueda y recolección de datos sobre el papel de KIF2C en el cáncer de mama y el ciclo celular, así como otros genes involucrados en la aparición de carcinoma de mama y con participación en el ciclo celular, donde se utilizaron las siguientes bases de

datos de literatura científica, Scencedirect, Scopus [39], Nature [40], Pubmed[41] y Evex [42] (Figura 1, Etapa 1, paso 1). Asimismo, se emplearon herramientas bioinformáticas como; Gen Ontology [43], Reactome [44], Biocyc [45] y KEGG [46], para la identificación de los genes implicados en la progresión del Ciclo celular, proceso biológico que fue seleccionado debido a la gran variedad de funciones cruciales que tiene KIF2C en la mitosis, tales como; el ensamblaje del huso, la congregación

cromosómica, la unión del cinetocoro-MT y la segregación cromosómica [50].

La minería de texto realizada partió inicialmente de la búsqueda de el gen KIF2C en la base de datos de Pubmed [41], esta búsqueda se efectuó en función de encontrar con que tipos de carcinomas presentaba algún tipo de relación KIF2C, según lo reportado en literatura dos de los carcinomas con los que presentaba una mayor relación, fueron cáncer de mama y cáncer de colon. Se optó por trabajar con cáncer de mama debido a su alta incidencia en la población femenina a nivel mundial. De forma paralela, se realizó la búsqueda de KIF2C en la base de datos de UALCAN [48], la cual permite observar cómo cambian los niveles de expresión del gen en diferentes tejidos cancerígenos. Esta búsqueda permitió confirmar que la mejor selección para esta investigación era cáncer de mama.

De manera análoga, se realizó la búsqueda de las vías de señalización y diferentes procesos biológicos en los que participa KIF2C, esta información se obtuvo de algunas de las bases de datos previamente mencionadas (KEGG, Biocyc y Reactome). Posteriormente, se realizó la minería de texto teniendo en cuenta los parámetros de búsqueda de la ecuación de búsqueda 1 (Tabla 1).

Para lograr identificar las distintas rutas y procesos biológicos en los que participa KIF2C, se realizó la búsqueda del gen en la base de datos biológicos Gene Ontology [43] y se llevó a cabo la extracción de la información de datos. De Gene Ontology [43] se obtuvo un listado de aquellos procesos biológicos en los que el gen KIF2C participaba, obteniendo un listado que abarcaba un total de 24 procesos

biológicos, con los cuales se realizó la primera compilación de la información que contenía cada uno de los genes y proteínas que participaban en los procesos biológicos relacionados con KIF2C.

Tabla 1. Parámetros de búsqueda y ecuaciones de búsqueda realizadas en la toma de datos para la construcción del modelo. No se realizó ninguna restricción frente al idioma. Cada una de estas ecuaciones de búsqueda fue empleada con las bases de datos; Scopus, PubMed, Nature y Sciencedirect.

Ecuaciones de búsqueda	
Ecuación de búsqueda 1	"KIF2C" AND "Breast Cancer" AND "Cell cycle" AND <i>Homo sapiens</i>
Ecuación de búsqueda 2	"Nombre del gen" AND "Cell cycle" AND "Homo sapiens" AND "Mitosis" AND "Anaphase"
Ecuación de búsqueda 3	"Nombre del gen" AND "Cell cycle" AND "Homo sapiens" AND "Mitosis" AND "Anaphase"
Ecuación de búsqueda 4	"Nombre del gen" AND "Cell cycle" AND "Homo sapiens"
Ecuación de búsqueda 5	"Nombre del gen" AND "Cell cycle" AND "Homo sapiens" AND "Phosphorylation" AND "Ubiquitylation"

Con esta información, se realizó un proceso de filtrado de los procesos biológicos para únicamente trabajar con 3 de los procesos claves en los que participa KIF2C. Estos procesos seleccionados fueron (i) el Ensamblaje del cinetocoro, (ii) la división celular, y (iii) el ensamblaje de los microtúbulos. Posteriormente se realizó un nuevo listado de genes/proteínas que participaban en alguno de los 3 procesos biológicos seleccionados, con este listado se tomó cada uno de los genes y proteínas reportadas para llevar a cabo la segunda búsqueda bibliográfica con parámetros diferentes (Tabla 1, ecuación de búsqueda 2), donde se encontró que la mayor participación de KIF2C estaba en la fase de la anafase de la mitosis, se optó por buscar cada uno de

los genes/proteínas del primer listado en esta fase específica del ciclo celular.

En la tercera etapa de búsqueda bibliográfica se determinó generalizar la ecuación de búsqueda con el propósito de centrar la búsqueda en la etapa de la mitosis del ciclo celular y así poder seguir alimentado el modelo matemático (Tabla 1, ecuación de búsqueda 3).

En la cuarta fase del proceso de búsqueda de información se optó por una ecuación de búsqueda de carácter aún más general, con el objetivo de profundizar en la exploración del proceso del ciclo celular (Tabla 1, ecuación de búsqueda 4).

Como paso final de la minería de texto, se realizó una búsqueda con los parámetros definidos en la ecuación de búsqueda 5 (Tabla 1). Dicha búsqueda permitió la construcción de la tabla de reacciones de esta investigación, la cual contiene la información sobre la relación entre las regulaciones a través de modificaciones postraduccionales, es decir, las relaciones proteína-proteína.

De igual manera, se realizó la búsqueda de cada uno de los genes/proteínas del primer listado en la base de datos de EVEX, base de datos que permite obtener información filtrada de modificaciones postraduccionales de las proteínas, directamente de literatura [42].

A partir de estos datos, se construyó la primera tabla de información compilada de esta investigación, la cual contenía la información sobre los diferentes procesos que involucran desde los procesos de transcripción de los genes, sus respectivos procesos de traducción, sus interacciones proteína-proteína y la relación que tenían con los 9 procesos biológicos

seleccionados para este modelo matemático (ver material suplementario).

Para las interacciones proteína-proteína se tuvo en cuenta si era una relación de activación o inhibición, las modificaciones postraduccionales tales como ubiquitinaciones y fosforilaciones, así como la etapa de la mitosis donde ocurría dicha reacción y la referencia del documento de donde se obtuvo la información, todo esto fue documentado en un archivo OneNote a través de la construcción de una tabla con toda la información suministrada (Figura 1, Etapa 1, paso 2).

Construcción del modelo en Cell Designer Bajo el estándar SBML Y SBGN

Según la información reportada en literatura se procedió a la reconstrucción de la red biológica centralizada en KIF2C en el software CellDesigner versión 4.4.2 (Figura 1, Etapa 2). Cell Designer es un editor de diagramas que me permite modelar procesos biológicos, redes de regulación génica y bioquímicas bajo el lenguaje estándar SBML (Por sus siglas en inglés Systems Biology Markup Language) empleando la Notación gráfica SBGN (Por sus siglas en inglés Systems Biology Graphical Notation) [11]. Con el propósito de lograr tener un modelo matemático funcional se estipularon los siguientes supuestos; 1) Se involucraron únicamente 3 compartimentos con el fin de simplificar el modelo, Núcleo, citoplasma membrana plasmática, 2) Para cada una de las proteínas modeladas fue adicionado su respectivo gen y RNA mensajero (mRNA) para lograr representar el mecanismo de transferencia de información genética correctamente. Sin embargo, hubo casos puntuales de algunas proteínas que no

presentaron mecanismo de transcripción y de traducción 3) Para los mRNA no se tuvieron en cuenta los procesos de degradación. 4) Para las proteínas que presentaron algún tipo de modificación para su activación, se representaron sus diversos mecanismos: Fosforilación, desfosforilación y ubiquitinación. 5) Los procesos celulares incluidos dentro del modelo como, por ejemplo, “spindle assembly”, “mitotic spindle checkpoint” proliferación celular y la apoptosis fueron representados en CellDesigner como fenotipos. 6) En el modelo se tuvo en cuenta la sobreexpresión de KIF2C según lo reportado en la literatura para el cáncer de mama. Para poder representar el modelamiento matemático se utilizó una aproximación determinística basada en un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias (ODEs) que representa una cinética elemental bajo la acción de la ley de acción de masas, que describe cómo varían las tasas de cambio de las especies moleculares involucradas en el modelo, junto con el parámetro cinético correspondiente y la concentración de la especie, (ver Ecuación 1 y Ecuación 2). Esta metodología permite reconstruir la red regulatoria y analizar su dinámica, proporcionando una visión más clara del papel de KIF2C en la regulación de la inestabilidad genómica en la expresión del cáncer de mama [13].

$$\frac{dX_{mRNA}}{dt} = K_a[X_{Gen}] - K_b[X_{mRNA}]$$

(Ecuación 1: Balance de materia para el RNA)

$$\frac{dX_{Proteína}}{dt} = K_1[X_{Gen}] - K_2[X_{Proteína}]$$

$$-k_3[X_{Proteína}]$$

(Ecuación 2: Balance de materia para la Proteína)

Donde \square representa la especie, $\square\square$ la constante de velocidad de transcripción, $\square\square$ y $\square 1$ la constante de velocidad de traducción, $\square 3$ la constante de velocidad de degradación y $\square 2$ la constante de velocidad de consumo para cada una de las reacciones implicadas en el modelo en un tiempo (t).

Modelamiento y simulación de la Red génica Construida

Los parámetros cinéticos, de cada una de las reacciones fueron obtenidos de dos bases de datos biológicas, Sabio-RK [12] y Biomodels [13], y de los valores reportados en literatura. Los parámetros que no se encontraron reportados en literatura o en bases de datos fueron estimados con relación a los valores cinéticos de reacciones similares. Las unidades de medida para los parámetros fueron unificadas en $\mu M * (h-1)$ (Figura 1, Etapa 3, paso número 5) para dar homogeneidad a los datos cinéticos del modelo.

Para el modelamiento de la red génica, cada parámetro cinético fue adicionado en CellDesigner en la reacción correspondiente. CellDesigner posee un panel de control que concede la capacidad de realizar el modelamiento de las redes construidas, así como las simulaciones y el análisis de sensibilidad siempre y cuando se hallen en un lenguaje estándar SBML, dicho panel incorpora un conjunto de solvers, tales como SosLib, que proporciona la capacidad de resolver sistemas de ecuaciones diferenciales [15].

Para las simulaciones, es necesario especificar las leyes cinéticas de las reacciones. Entre las funciones cinéticas predefinidas que tiene el panel de CellDesigner se encuentra la cinética de Ley de

acción de Masas, que se puede seleccionar en el panel de "Funciones predefinidas" del cuadro de diálogo Ley cinética. Cuando se selecciona la cinética de la ley de acción de masas el software completa automáticamente el campo matemático con una fórmula predeterminada que representa la expresión de velocidad para la cinética de acción de masas (Figura 2).

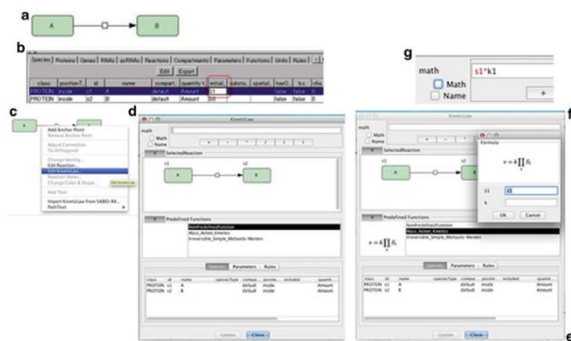


Figura 2. Asignación de la Ley Cinética a una Reacción de Transición de Estado en un Modelo con Proteínas A y B en CellDesigner tomado de (Matsuoka, Y., Funahashi, A., Ghosh, S., & Kitano, H. (2014).

Como se muestra en la figura 2 (g), la fórmula que se muestra en el campo matemático después de seleccionar esta opción es $s1*k1$. Donde $s1$ equivale a la concentración de una especie involucrada en la reacción, y $k1$ el parámetro cinético, o constante de velocidad, para esa reacción en particular, cuyo valor numérico luego es ingresado por el propio usuario. Este proceso asigna la ley cinética necesaria para la simulación computacional de la red biológica modelada. (Figura 1, Etapa 3, paso número 6).

El tiempo de ejecución de las simulaciones fue de 550 intervalos de tiempo, que corresponden a 0.04 horas de acuerdo con la duración del ciclo celular (24h), de acuerdo con la ecuación 3.

$$\frac{1 \text{ intervalo de tiempo} \cdot 24 \text{ horas}}{550 \text{ intervalos de tiempo}} = 0.04 \text{ horas}$$

(Ecuación 3: Tiempo de ejecución de las simulaciones)

De los nueve procesos biológicos que fueron considerados para la construcción de la red de regulación e interacción, el resumen del ciclo celular es el que presento una mayor duración, con un aproximado de 24 horas que es la duración del ciclo celular en mamíferos [51,52].

En el presente estudio, se consideró que el sistema alcanza el estado estacionario al finalizar el ciclo celular, asumiendo de manera hipotética una duración total de 550 intervalos de tiempo para representar un ciclo celular completo. Cada intervalo de simulación fue definido con una duración equivalente a 0,04 horas, de modo que la totalidad del ciclo simulado corresponde a un periodo de 24 horas. Esta aproximación permite relacionar el tiempo de simulación, con el tiempo real que ocurren los procesos biológicos. Lo que facilita, la interpretación fisiológica de los resultados. La asignación de equivalencias temporales entre los pasos de simulación y la duración del ciclo celular es una práctica que se realiza normalmente cuando se trabajan con modelos computacionales de sistemas biológicos en mamíferos, puesto que, permite usar tiempos que tienen sentido biológico relevantes en modelos dinámicos complejos [51,52].

Luego, para evaluar la respuesta del modelo frente a distintos tipos de perturbaciones, se identificaron las especies biológicas que reportaron el mayor número de interacciones en la red (CDK1, AURKB) y la

especie biológica central de este trabajo (KIF2C) para realizar un análisis de sensibilidad. Para el análisis de sensibilidad se plantearon y evaluaron seis escenarios de simulación por especie se varió individualmente la concentración del gen que codifica para cada especie seleccionada con aumentos y reducciones en 100 veces (100x y -100x) (Tabla 1).

Tabla 1. Valor de la concentración inicial para cada escenario propuesto para las especies (KIF2C, CDK1, AURKB).

GEN	KIF2C	CDK1	AURKB
C.I	1.0	1.0	1.0
Esce 1	0.001	0.001	0.001
Esce 2	0.01	0.01	0.01
Esce 3	0.1	0.1	0.1
Esce 4	100	100	100
Esce 5	1000	1000	1000
Esce 6	10000	10000	10000

Resultados y Discusión

Red de regulación KIF2C

El modelo construido para simular la red de regulación de KIF2C tiene 1714 reacciones (Ver material suplementario), que involucra reacciones de transcripción, traducción, estados de transición, asociación y disociación de complejos, catálisis, inhibición, modulación o modulación reducida, estimulación física o estimulación reducida, influencia positiva y negativa. Contiene 1786 especies biológicas, entre las que se encuentran 450 proteínas, 307 genes y sus respectivos 307 ARNm, 11 fenotipos que incluyen 3 procesos celulares, 124 complejos, 5 moléculas simples y un fármaco (droga) que corresponde al 6 bromoindin 3 oxime la cual participa en la vía de la señalización de la Wnt-Beta catenina (Figura S1, ver material suplementario).

Finalmente, el modelo matemáticamente está representado por un sistema de 1786 ecuaciones diferenciales ordinarias y 1714 parámetros cinéticos.

Tabla 2. Lista de procesos biológicos considerados para la reconstrucción de la red de regulación e interacción del gen KIF2C

Categoría	Proceso biológico
Proceso celular	Apoptosis
Proceso celular	Proliferación celular
Proceso celular	DNA damage checkpoint
Proceso celular	Cell cycle
Proceso celular	Mitotic spindle checkpoint
Proceso celular	Cytoskeleton organization and citogénesis
Proceso celular	Mitosis
Proceso celular	Chromosome segregation
Proceso celular	Chromosome condensation
Proceso celular	Kinetochore Assembly
Proceso celular	Spindle assembly

El modelo (Figura S1, ver material suplementario) incluye diversas vías de señalización relacionadas con los procesos celulares de apoptosis y ciclo celular, en las cuales se destacan la vía de las caspasas, la vía Wnt Wnt/ β -catenina, y la vía PL3K/AKT/mTor que se encarga de regular procesos celulares como la proliferación y la supervivencia. Así mismo, se incluyeron procesos biológicos relacionados con KIF2C, como el ensamblaje del cinetocoro, la proliferación celular, la segregación cromosómica, la condensación cromosómica, la mitosis y puntos claves como el punto de control del DNA, el de control del huso mitótico. El conjunto del huso, la organización del citoesqueleto, y la citogénesis (Tabla 2).

Análisis y simulación de los escenarios evaluados

La simulación se realizó inicializando cada uno de los genes a una concentración de $1.0 \mu\text{M}$ (valor empleado para representar la disponibilidad basal del gen) y algunas especies proteicas que no contaban con los procesos de síntesis, que se asumen como presentes de forma libre desde el inicio, a $5.0 \mu\text{M}$ (valor empleado en el modelo para representar la disponibilidad suficiente de estas proteínas). Estas condiciones iniciales se establecieron a partir de supuestos definidos para el adecuado funcionamiento del modelo.

La primera corrida inicial del modelo se realizó con los parámetros definidos anteriormente esta fue realizada para encontrar en qué momento la red convergía y alcanzaba el estado estacionario. En la figura 3 se puede observar que la red alcanza el estado estacionario a los 550 intervalos de tiempo, donde cada uno de los intervalos equivale a 0.04 horas, de acuerdo con la duración del ciclo celular completo (24h) (Ecuación 3).

Este resultado indica que el sistema biológico representado por la red de regulación de KIF2C es capaz de alcanzar un estado de equilibrio. Este comportamiento es consistente con la resiliencia característica de los sistemas biológicos, los cuales normalmente tienden a estabilizarse y mantener su funcionamiento a lo largo del tiempo, incluso ante cambios internos o externos.

Al evaluar los resultados del análisis de sensibilidad, de acuerdo con los escenarios de simulación planteados en la Tabla 1, el modelo no fue sensible a la disminución de la concentración de las 3 especies proteicas seleccionadas (CDK1, AURKB y KIF2C).

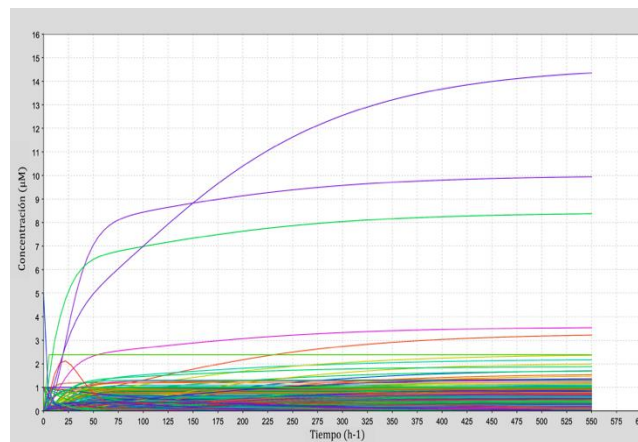


Figura 3. Simulación completa de la red de regulación e interacción de KIF2C, cada una de las líneas representa una de las especies biológicas de la red, en el eje X se encuentra el tiempo de simulación medida en h^{-1} y el eje Y el cual muestra el cambio en la concentración de cada una de las especies biológicas a lo largo del tiempo este se mide en micro molares μM .

Como consecuencia, no se reportan cambios significativos en las dinámicas del modelo en comparación a las condiciones iniciales en los escenarios 1, 2, 3 de cada una de las especies. Asimismo, en los escenarios 4,5,6 se presentaron los mismos cambios, pero en diferente magnitud por lo que se optó por mostrar los gráficos del escenario 6 los cuales mostraron el mayor cambio en las concentraciones tanto de las especies biológicas como en los procesos biológicos. Para cada escenario de simulación 6 de cada especie se realizaron dos gráficos esto con el fin de mostrar en su totalidad cada uno de los marcadores establecidos para cada especie. Esto debido a que se presentaron grandes diferencias de concentración en algunos procesos y especies biológicas en cada una de las gráficas del escenario 6 de (KIF2C, CDK1 y AURKB).

Escenario de simulación 6 para KIF2C

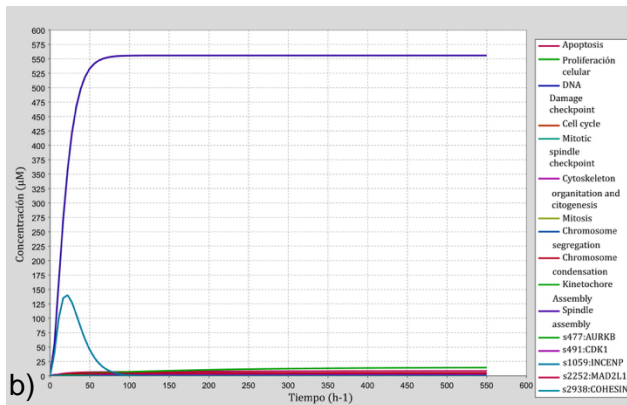
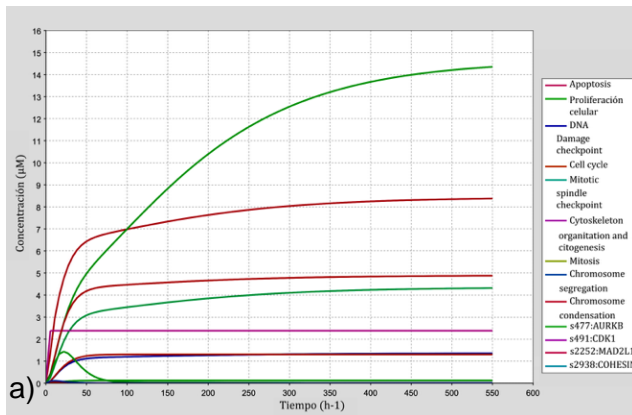


Figura 4. Escenario de simulación 6, cambio en la concentración de KIF2C 10.000x en el eje X se encuentra el tiempo total de la simulación y en el eje Y a) Se reporta la información relacionada a la concentración de las especies y procesos biológicos. reporte de los procesos biológicos "spindle assembly" y "Kinetochores assembly" así como el cambio de la concentración de la proteína INCENP, b) Se reporta la información relacionada con las siguientes especies biológicas; CDK1, MAD2L1, COHESIN, AURKB y los siguientes procesos biológicos: Apoptosis, Proliferación celular, "DNA Damage Checkpoint", "Cell cycle", "Mitotic spindle checkpoint", "Cytoskeleton", "Organization and citogenesis", "Mitosis", "Chromosome segregations", "Chromosome condensation"

El escenario de simulación 6, refleja el mayor cambio en la concentración de KIF2C (10.000x, Tabla 1). De acuerdo con los reportes de literatura [53,54], la sobreexpresión de KIF2C se correlaciona con un cambio abrupto en los procesos del ensamblaje del

cinetocoro y el conjunto del huso, la expresión de la proteína INCENP así como un cambio mínimo en la segregación cromosómica y en la expresión de AURKB, un regulador clave para KIF2C. Los datos del escenario de simulación número 6 de KIF2C, corroboran, esta información dado que, si se presentaron cambios en estos procesos y especies biológicas.

KIF2C pertenece a la familia de las kinesinas-13, familia que es crítica para la regulación de la dinámica de los microtúbulos [52,53]. También, regula la dinámica de los microtúbulos como un potente despolimerizador al eliminar las subunidades de tubulina del extremo del polímero [52]. Esta actividad despolimerizante desempeña un papel fundamental en el ensamblaje del huso, en la corrección de las uniones erróneas de microtúbulos-cinetocoro y en el movimiento cromosómico.

La sobreexpresión de KIF2C si afecta en el proceso del ensamblaje del huso debido a que el "spindle assembly" (Figura 4b), que de acuerdo con los resultados de este trabajo fue el proceso biológico que presentó mayor actividad cuando se sobreexpresó KIF2C. Esto se corrobora con lo visto en literatura donde un cambio en la concentración de KIF2C provoca una interrupción de la dinámica de los microtúbulos evento que se relaciona con la aparición de la inestabilidad cromosómica [5].

Ahora, si este ensamblaje falla o es desregulado, puede producirse aneuploidía, mal segregación cromosómica, y la activación crónica del SAC. En el caso del escenario número de 6 donde se presentó un aumento de la actividad del punto del huso mitótico, se podría exponer según lo reportado con anterioridad

que al sobre expresarse KIF2C se pueden llegar a presentar fallas en el ensamblaje del huso. Por lo tanto, la regulación precisa de KIF2C es de vital importancia para asegurar la segregación fiel de los cromosomas en la mitosis y salvaguardar la estabilidad cromosómica [16].

El cinetocoro es una estructura proteica ubicada en los cromosomas donde se unen los microtúbulos del huso mitótico [57]. Su función adecuada es esencial para guiar la separación precisa de los cromosomas en dos células hijas durante la división celular [57]. Por lo que una desregulación de la actividad del ensamblaje del cinetocoro puede provocar errores en la segregación cromosómica. Actividad que se muestra en la (figura 4b), donde ocurre un cambio abrupto de esta actividad, y se produce un cambio en el proceso de la segregación cromosómica (Figura 4a).

Estos errores son una causa primaria de inestabilidad cromosómica (CIN) [5].

Y es que la integridad del genoma depende de la precisión de la segregación cromosómica en cada división celular, debido a que esta provoca CIN, que conlleva al desarrollo de la progresión del cáncer, la agresividad tumoral, y se asocia con un mal pronóstico favorable [5].

El equilibrio entre todos los diferentes componentes del cinetocoro es crucial para poder mantener la estabilidad del genoma y la ploidía correcta, el aumento o disminución de la actividad de diferentes componentes del cinetocoro puede llevar a la formación de cromosomas con muy poca unión de microtúbulos o caso contrario demasiados microtúbulos unidos a un cromosoma por lo que la desregulación de cualquier componente del

cinetocoro como lo es KIF2C puede provocar inestabilidad genómica o aneuploidía como se evidencia en la figura 4(a-b) [21].

Dentro del marco de la simulación, la sobreexpresión de la proteína INCENP fue la especie biológica que presento un mayor cambio en su concentración. INCENP se encuentra relacionado con el cáncer de mama invasivo, se asocia con características tumorales agresivas en las que se incluyen un mayor tamaño y un alto grado tumoral y a los puntajes en el índice pronóstico de Nottingham (NPI) [16].

La expresión de la proteína INCENP tiene correlación con la expresión de la proteína KIF2C, en cáncer de mama, lo que se muestra en los resultados del modelo matemático construido y en los resultados correspondientes al escenario número de 6 (figura 4a) [22].

Sin embargo, actualmente no se tiene certeza de si existe alguna relación de regulación entre la sobreexpresión de KIF2C e INCENP [22], por lo cual se recomienda validar experimentalmente a futuro los resultados obtenidos del modelo presentado en este trabajo.

En adición, la alta expresión de INCENP se ha identificado como un biomarcador de mal pronóstico en cáncer de mama, estudios realizados en neuroblastoma han demostrado que la focalización en INCENP induce poliploidización, apoptosis y senescencia, reduciendo el crecimiento tumoral por lo que la comprensión de como KIF2C induce el aumento de la concentración de INCENP puede construir una línea prometedora hacia una investigación centrada en la regulación de INCENP [22].

Continuando con el análisis de los resultados, AURKB es una proteína quinasa de serina/treonina que se une a los cinetocoros involucrados en la unión cinetocoro-microtúbulo, un proceso en el que también participa KIF2C de manera coordinada. Por ello, no resulta sorprendente que se observaran variaciones en la concentración de AURKB en el escenario número 6, correspondiente a la sobreexpresión de KIF2C (Figura 4b) [19]. En la figura 6, se observa cómo hay un cambio mínimo en la actividad de AURKB, lo que puede deberse al papel regulador que tiene AURKB frente a KIF2C, por lo que al presentarse una desregulación de KIF2C, AURKB se activa para intentar regular la actividad de KIF2C [19].

La respuesta a esta incógnita puede deberse a varios factores el primer factor puede ser que, AURKB detecta uniones inadecuadas cinetocoro-microtúbulo, por lo tanto, se da un aumento en su actividad porque, percibe un mal ensamblaje del cinetocoro provocado por la sobreexpresión de KIF2C [24,25].

El segundo factor podría deberse a la relación entre la sobreexpresión de AURKB y el cáncer de mama, ya que, tiene implicaciones funcionales importantes, específicamente en la mitosis. Puesto que, al promover la progresión del ciclo celular y garantizar la segregación cromosómica adecuada, podría acelerar la división de las células de cáncer de mama, promoviendo la proliferación celular [26,27,28,29]. Por lo tanto, la sobreexpresión de AURKB podría estar influenciada por dos factores aparentemente opuestos. Por un lado, su activación actuaría como un mecanismo compensatorio para regular la sobreexpresión de KIF2C y corregir los errores observados en la Figura 4b, donde se evidencian

alteraciones en procesos como el ensamblaje del huso mitótico y del cinetocoro. No obstante, el aumento en la actividad de AURKB también se ha asociado con una mayor proliferación celular y crecimiento tumoral. En este contexto, la activación de AURKB podría interpretarse como una respuesta celular destinada a mitigar los defectos causados por KIF2C, aunque con posibles consecuencias oncogénicas no deseadas.

Además de la proliferación, la sobreexpresión de AURKB podría estar involucrada en diferentes aspectos de la progresión del cáncer de mama, como la metástasis, la invasión o incluso la resistencia a la terapia, según lo reportado en literatura [32].

Escenario de simulación 6 AURKB

Para el caso de AURKB también se optó por mostrar dos gráficas del mismo escenario para poder visualizar todos los marcadores de manera correcta.

En relación con los resultados se encontraron variaciones nuevamente en INCEP; adicionalmente, un aumento en la expresión de KIF2C, cambios en “spindle assembly” y “kinetochore assembly”, resultados que ya fueron explicados en el escenario 6 de KIF2C.

No obstante, se encontraron dos nuevas modificaciones no reportadas en el escenario anterior, debido a que se presentó un cambio en las concentraciones del “mitotic spindle checkpoint” y MAD2L1, y que se exponen más adelante.

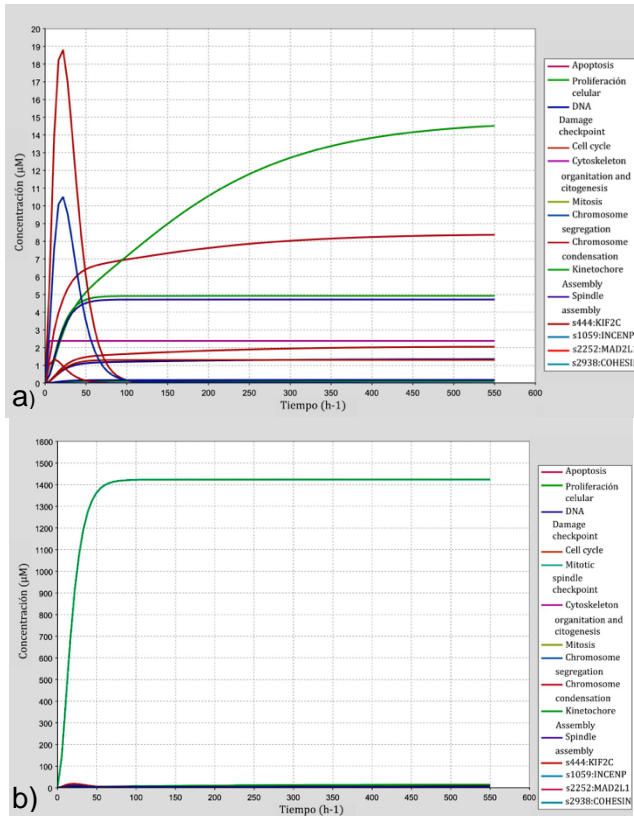


Figura 5. Escenario de simulación AURKB 10.000X en el eje X se encuentra el tiempo total de la simulación y en el eje Y. a) Se reporta la información relacionada con las siguientes especies biológicas; CDK1, MAD2L1, COHESIN, INCENP y los siguientes procesos biológicos: Apoptosis, Proliferación celular, DNA Damage Checkpoint, Cell cycle, Mitotic spindle checkpoint, Cytoskeleton, Organization and citogenesis, Mitosis, Chromosome segregations, Chromosome condensation. b) Se reporta la información relacionada con el siguiente proceso biológico: Mitotic spindle Checkpoint.

El punto del ensamblaje del huso (“mitotic spindle checkpoint”), fue el proceso biológico que presentó el mayor aumento de actividad frente al cambio de la concentración de AURKB.

El ciclo celular es un proceso vital en la vida de las células, y como se ha venido exponiendo la correcta segregación de los cromosomas durante la división celular, es esencial para mantener la estabilidad genómica. En este sentido, la segregación

cromosómica precisa depende de la regulación de la mitosis por el punto de control del huso. Este punto de control monitorea el estado de la unión cinetocoro-microtúbulo y retrasa la transición de metafase a anafase hasta que todos los cinetocoros hayan formado conexiones bipolares estables con el huso mitótico [59]. Del mismo modo, el punto de control del huso (PCM) actúa como un mecanismo de vigilancia que asegura que cada célula hija logre recibir un complemento cromosómico completo y preciso, y su alteración puede tener consecuencias en el desarrollo del cáncer [31].

En este caso (Figura 5b) se puede observar cómo hay un cambio en la actividad del punto del huso mitótico provocado por la sobreexpresión de AURKB, esto sucede también con la sobreexpresión de CDK1 (Figura 6a).

Esto sucede debido a que, AURKB es un componente del complejo cromosómico pasajero (CPC), al igual que CDK1 los cuales se localizan en los cinetocoros y son fundamentales para asegurar la correcta unión de los microtúbulos del huso. Una de las funciones clave es la corrección de errores en estas uniones. AURKB desestabiliza las uniones incorrectas entre los cinetocoros y los microtúbulos, como, por ejemplo; cuando ambos cinetocoros hermanos se unen al mismo polo del huso. Esta actividad de corrección de errores puede generar temporalmente cinetocoros no unidos [57]. Los cinetocoros no unidos son potentes activadores del PMC. Por lo que, el PMC se activa para detener la progresión del ciclo celular hasta que todos los cromosomas estén correctamente unidos al huso [57].

Por tal motivo, los resultados vistos en la figura 5b se corroboran con lo reportado en literatura ya que, se está dando un aumento en la actividad del “mitotic spindle checkpoint” (PMC), lo cual se debe a que posiblemente la sobreexpresión de AURKB en el escenario número 6 (Figura 5b) este promoviendo la actividad del PMC.

El promover la actividad del PMC puede afectar su función la cual es, facilitar la formación del complejo del punto de control mitótico MCC, compuesto por MAD2, BUBR1, BUB3 y CDC20 [32]. El MCC actúa inhibiendo el Complejo Promotor de la Anafase/Ciclosoma (APC/C), una ubiquitina ligasa E3 de suma importancia para la progresión del ciclo celular [32].

Esta inhibición provoca que no se realice la degradación de securina y ciclina B, proteínas cuya destrucción es necesaria para la separación de las cromátidas hermanas y la salida de la mitosis [32].

Por lo que, al tener una actividad irregular PCM, como en la figura (5b) pueden provocarse errores en la segregación cromosómica durante la división celular, lo que da como resultado en aneuploidía, un sello distintivo del cáncer de mamá y que se encuentra estrechamente relacionado con la inestabilidad cromosómica [34].

Asimismo, la desregulación del PMC puede resultar contradictoria, ya que, si bien normalmente detiene el ciclo celular en respuesta a errores, su alteración puede favorecer la proliferación y la supervivencia celular. Si el punto de control se debilita, las células con errores pueden proliferar más rápidamente. No obstante, si los errores son demasiado graves o la detención del ciclo es prolongada, puede inducirse la

muerte celular por lo que la desregulación de este proceso biológico visto en la figura 5b podría traer otras consecuencias, entre ellas, un impacto negativo en la eficacia de ciertos tratamientos oncológicos. [35].

En este contexto, uno de los efectos más relevantes es la resistencia a fármacos, particularmente a los agentes anti-microtúbulos como el paclitaxel [18]. La desregulación del PMC permite que las células cancerosas con un punto de control debilitado escapen prematuramente de la mitosis, sin activar mecanismos de apoptosis frente al daño inducido por estos fármacos [18,38]. Esto limita su efectividad terapéutica y representa un desafío importante en el tratamiento del cáncer.

Por todas las razones mencionadas anteriormente, el hecho de que, en el escenario número de 6 de AURKB (Figura 5b) se presente un cambio tan abrupto de la actividad de PCM se puede correlacionar con la aparición de cáncer de mama.

En el caso de MAD2L1 se encontró que, es una proteína esencial dentro del proceso del control del huso mitótico, cuando esta proteína se encuentra activa, interactúa con otras proteínas del punto de control, como MAD1 y CDC20, para formar el complejo inhibidor mitótico [37]. Este complejo inhibe la actividad del complejo promotor del anafase/ciclosoma (APC/C), complejo que es esencial para la progresión hacia la anafase mediante la degradación de sustratos clave como la securina y las ciclinas mitóticas [37]. Al inhibir el APC/C, MAD2L1 detiene el ciclo celular en metafase hasta que todos los cromosomas se encuentren correctamente alineados y unidos al huso mitótico, lo

cual asegura una segregación cromosómica precisa [38].

En este caso, en el escenario número 6, (Figura 5a) se puede observar cómo hay un cambio en la concentración de MAD2L1, dándose una ligera sobreexpresión de la proteína, esta sobreexpresión de MAD2L1 puede llegar a comprometer la función del Punto del ensamblaje del huso. Por lo que, la sobreexpresión de AURKB nuevamente está provocando cambios relacionados con la inestabilidad genómica.

De igual forma, la sobreexpresión de MAD2L1, puede llevar a una detención mitótica prolongada, causando estrés celular e incluso apoptosis [38]. Asimismo, la sobreexpresión de MAD2L1 puede llegar a saturar otros componentes del SAC o incluso interferir con la dinámica normal del punto de control, contribuyendo a la inestabilidad genómica y tumorigenesis [38].

Por último, el resaltar, que, así como hubo una ligera sobreexpresión de AURKB en el escenario 6 de KIF2C (Figura 4a), también existió una sobreexpresión de KIF2C en el escenario 6 de AURKB (Figura 5a) esto se debe posiblemente a que, tanto AURKB como KIF2C son reguladores esenciales de la mitosis, asegurando la segregación cromosómica adecuada y la dinámica del huso [58].

Este resultado se relaciona con lo visto en la investigación de Rodrigues-Ferreira y colaboradores en 2023, donde se demuestra que AURKB Y KIF2C se encuentran sobre expresados en tejidos tumorales del subtipo cáncer de mama triple negativo (TMC).

En consecuencia, el escenario 6, ha demostrado como la sobreexpresión de AURKB si se relaciona con la

aparición de inestabilidad genómica al desregular procesos biológicos como el punto de control del huso mitótico, o especies biológicas como; MAD2L1, KIF2C e INCENP.

Escenario de simulación 6 para CDK1

Para el caso de CDK1 se realizaron dos gráficas dado lo explicado al inicio de este análisis, debido al cambio en la concentración de “mitotic spindle checkpoint” y el complejo promotor del anafase (APC/C).

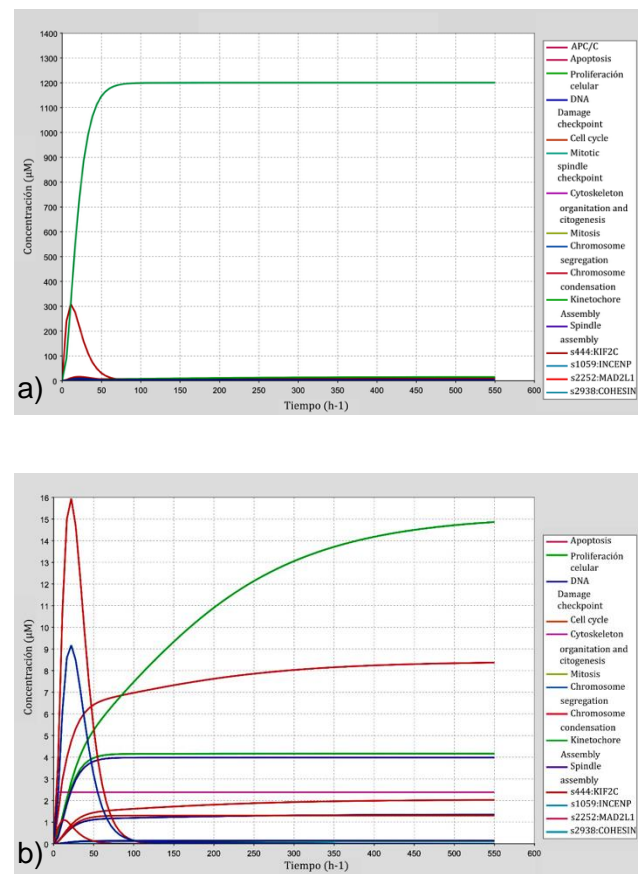


Figura 6. Escenario de simulación CDK1 10.000X en el eje X se encuentra el tiempo total de la simulación y en el eje Y, a) Se reporta la información relacionada con el siguiente proceso biológico: "Mitotic spindle Checkpoint" y la especie biológica APC/C. b) Se reporta la información relacionada con las siguientes especies biológicas; KIF2C, INCENP, MAD2L1, COHESIN y los siguientes procesos biológicos: Apoptosis, Proliferación celular," DNA Damage Checkpoint"," Cell cycle", "Mitotic spindle

checkpoint”, ”Cytoskeleton”, ”Organization and
citogenesis”” Mitosis”, ”Chromosome
segregations”, ”Chromosome condensation”.

En lo que respecta al análisis de los resultados, la única variación exclusiva observada para este escenario fue el cambio del complejo promotor del anafase APC/C el cual, según lo reportado en la literatura, es un complejo grande y altamente conservado que consta aproximadamente de 19 subunidades, organizadas en distintos sub-complejos que incluyen el núcleo catalítico, la plataforma y el lóbulo TP [38]. Esta estructura le permite al APC/C mediar la ubiquitinación de proteínas diana, marcándolas para su posterior degradación por la proteasoma 26S. Dicho proceso de ubiquitinación implica una cascada enzimática donde la ubiquitina primeramente es activada por una encima activadora de ubiquitina (E1), posteriormente transferida a una enzima conjuradora de ubiquitina (E2) y finalmente la ligasa de ubiquitina (E3) en este caso el APC/c la subunidad APC11, la cual facilita la unión de la ubiquitina a la proteína sustrato [38].

En este escenario ocurre, lo mismo que en el escenario número 6 de AURKB donde se está promoviendo la actividad del PMC y como se pudo expresar con anterioridad esto puede afectar la función de PMC de facilitar la formación del complejo del punto de control mitótico MCC, compuesto por MAD2, BUBR1, BUB3 y CDC20 [32].

Anteriormente se planteó un escenario hipotético en el que una alteración en la actividad del PMC podría afectar al MCC y, por ende, a la inhibición del complejo promotor del anafase (APC/C) [38]. En el

escenario actual, esto deja de ser una posibilidad teórica, ya que según lo observado (Figura 7), APC/C no está siendo inhibido. Esto implica que la degradación de proteínas clave como securina y ciclina B podría estar ocurriendo de forma prematura, lo cual compromete el control sobre la separación de las cromátidas hermanas y la salida ordenada de la mitosis [32].

La degradación temprana de la securina activa la separasa, lo que lleva a la separación de las cohesinas antes de que todos los cromosomas estén correctamente alineados. Esto da lugar a una segregación cromosómica defectuosa, lo que, como se ha señalado a lo largo de este documento, está estrechamente relacionado con inestabilidad cromosómica [5,24].

Del mismo modo, la degradación anticipada de la ciclina B por el APC/C puede llevar a una desregulación en la actividad de CDK1. Aunque normalmente la degradación de ciclina B conduce a la inactivación de CDK1 y permite la salida de mitosis, en el escenario 6, donde CDK1 se encuentra sobreexpresado, podría producirse una falta de coordinación entre la degradación de ciclina B y la inactivación efectiva de CDK1, lo que alteraría la progresión normal de la mitosis [32].

La disminución de la actividad de CDK1 es esencial para varios eventos de salida de la mitosis, incluyendo la desfosforilación de sus sustratos, el desmontaje del huso mitótico y la reformación de la envoltura nuclear [59]. La persistencia de CDK1 activo, a pesar de la degradación de ciclina B, apunta a un fallo en el control de esta etapa crítica del ciclo celular.

Por ende, una actividad alterada del APC/C puede llevar a una acumulación de sustratos que normalmente serían degradados, los cuales pueden tener funciones oncogénicas, lo que resulta en una proliferación celular descontrolada y la adquisición de inestabilidad genómica [38].

Por otro lado, el complejo APC/CCdh1 se activa desde el anafase tardío hasta la fase G1, ayudando a la salida mitótica completa y al mantenimiento del estado G1 al impulsar la degradación de reguladores mitóticos restantes, incluido el propio Cdc20. Lo que pone en evidencia el papel central de este complejo en la orquestación precisa de la división por lo que, una activación exagerada de este complejo (Figura 7) puede llegar a afectar el proceso de división celular [38].

La desregulación del APC/C, tanto en términos de su actividad como de la concentración de sus componentes, se ha reportado que tiene relación con el desarrollo y la progresión de diversos tipos de cáncer, por tal motivo el observar el gran aumento en el escenario 6, de CDK1 (Figura 9) demuestra la relación que tiene la sobreexpresión de CDK1 con cáncer [38].

Conclusiones

- El modelo propuesto en este estudio para evaluar la regulación del gen KIF2C en los mecanismos asociados a la inestabilidad genómica, presenta una estrategia sólida para integrar información biológica y construir redes de regulación e interacción génica.
- Esta red sirvió como plataforma para identificar y evaluar las dinámicas celulares

clave en contextos como la progresión tumoral, la alteración del ciclo celular y la inestabilidad cromosómica.

- Los resultados de las simulaciones pueden variar dependiendo del tipo de aproximación matemática que se utilice. Así, para este estudio en concreto se empleó una aproximación determinística basada en una cinética elemental que se rige por la ley de acción de masas. Esta aproximación matemática, permitió estudiar cómo los balances de materia y los cambios en la concentración de especies afectan la dinámica de la red de regulación génica de KIF2C.
- En una futura investigación se podrían incorporar aproximaciones cinéticas más complejas, como (i) las Michaelianas, que permitirían refinar la representación de la actividad enzimática, aunque aún falta información experimental sobre las constantes cinéticas de muchas reacciones y (ii) una aproximación estocástica, que su complejidad probabilística y la demanda de cómputo requerida para ello no se abordó en este trabajo.
- De este trabajo, se resalta la estrategia de modelado con CellDesigner, ya que facilita modificar y ampliar el modelo según los objetivos del estudio, permitiendo crear versiones más complejas para validarlas en el laboratorio.
- Este estudio permitió caracterizar el evento de inestabilidad genómica inducido por la

sobreexpresión de KIF2C, y a través de los escenarios de simulación, se identificaron 2 circuitos génicos críticos que coinciden con lo reportado en literatura. Dichos circuitos, cuando se ven afectados por la desregulación de KIF2C, pueden promover alteraciones funcionales en procesos como el ensamblaje del huso mitótico, el punto de control del huso y la segregación cromosómica lo que proporciona evidencia de su rol como posible oncogén en ciertos subtipos de cáncer de mama, como el triple negativo.

- Asimismo, las especies biológicas más relevantes en estos circuitos incluyen a AURKB, MAD2L1, CDK1 e INCENP, todas implicadas directamente en la regulación de la mitosis. Donde se evidencio como el cambio en las concentraciones de estas especies biológicas también están involucradas con la inestabilidad cromosómica.
- Validar este modelo en el laboratorio ayudará a entender mejor el papel de KIF2C en la inestabilidad genómica, el cáncer y su posible uso como biomarcador o blanco terapéutico.

Material Suplementario.

El material suplementario está disponible en MendeleyData en el siguiente enlace:

<https://data.mendeley.com/drafts/8gmg84h3vz>

Figura 2. Red de regulación del gen KIF2C en el evento de inestabilidad genómica. Se muestran los tres compartimientos considerados para la reconstrucción, las especies biológicas y las interacciones conjuntas de los

nueve procesos. Los genes fueron representados por cuadros amarillos, los mRNAs por cuadros con diagonales en las esquinas de color de verde oscuro, las proteínas por cuadros con esquinas ovaladas de un color verde claro, los complejos con cuadros con esquinas ovaladas grisáceos y los procesos biológicos por hexágonos de color morado.

Referencias

1. Klipp, E., Liebermeister, W., Wierling, C., & Kowald, A. (2016). *Systems biology: A textbook* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
2. Masters, B. R. (2012). Introduction to Biomedical Engineering, Third Edition. *Journal Of Biomedical Optics*, 17(3), 039901. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.17.3.039901>
3. Pikor, L., Thu, K., Vucic, E., & Lam, W. (2013). The detection and implication of genome instability in cancer. *Cancer and Metastasis Reviews*, 32(3–4), 341–352. <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9429-5>
4. Bakhom, S. F., & Cantley, L. C. (2018). The multifaceted role of chromosomal instability in cancer and its microenvironment. *Cell*, 174(6), 1347–1360. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.027>
5. Sanhaji, M., Friel, C. T., Wordeman, L., Louwen, F., & Yuan, J. (2011). Mitotic centromere-associated kinesin (MCAK): A potential cancer drug target. *Oncotarget*, 2(12), 935–947. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.416>
6. Liu, S., Ye, Z., Xue, V. W., Sun, Q., Li, H., & Lu, D. (2023). KIF2C is a prognostic biomarker associated with immune cell infiltration in breast cancer. *BMC Cancer*, 23, 307. <https://doi.org/10.1186/s12885-023-10788->
7. Fang, L., Liu, Q., Cui, H., Zheng, Y., & Wu, C. (2022). Bioinformatics analysis highlight differentially expressed CCNB1 and PLK1 genes as potential anti-breast cancer drug targets and prognostic markers. *Genes*, 13(4), 654. <https://doi.org/10.3390/genes13040654>
8. Zhang, B., Liu, P., Li, Y., Hu, Q., Li, H., Pang, X., & Wu, H. (2022). Multimodal analysis of kinesin family member 2C in human tumors: A novel prognostic biomarker and regulator of the tumor microenvironment. *American Journal of Cancer Research*, 12(11), 4954–4976. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9729912/>
9. Manning, A. L., Ganem, N. J., Bakhom, S. F., Wagenbach, M., Wordeman, L., & Compton, D. A. (2007). The kinesin-13 proteins Kif2a, Kif2b, and Kif2c/MCAK have distinct roles during mitosis in human cells. *Molecular Biology of the Cell*, 18(8), 2970–2979. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-02-0110>

10. Funahashi, A., Tanimura, N., Morohashi, M., & Kitano, H. (2003). CellDesigner: A process diagram editor for gene-regulatory and biochemical networks. *Biosilico*, 1(4), 159–162. [https://doi.org/10.1016/S1478-5382\(03\)02370-9](https://doi.org/10.1016/S1478-5382(03)02370-9)
11. Whitten, K. W., Davis, R. E., & Peck, M. L. (1998). *General chemistry*. McGraw-Hill. <https://www.mheducation.es/bcv/guide/capitulo/8448157133.pdf>
12. Wittig, U., Kania, R., Golebiewski, M., Rey, M., Shi, L., Jong, L., Algaa, E., Weidemann, A., Sauer-Danzwith, H., Mir, S., Krebs, O., Bittkowski, M., Wetsch, E., Rojas, I., & Müller, W. (2012). SABIO-RK—Database for biochemical reaction kinetics. *Nucleic Acids Research*, 40(D1), D790–D796. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1046>
13. Le Novere, N., Bornstein, B., Broicher, A., Courtot, M., Donizelli, M., Dharuri, H., Li, L., Sauro, H., Schilstra, M., Shapiro, B., Snoep, J. L., & Hucka, M. (2006). BioModels Database: A free, centralized database of curated, published, quantitative kinetic models of biochemical and cellular systems. *Nucleic Acids Research*, 34(Database issue), D689–D691. <https://doi.org/10.1093/nar/gkj092>
14. Bravo, V. A., Clavijo, D. C., & Quimbaya, M. A. (2024). *Identificación del efecto del flavonoide quercetina en los procesos biológicos del ciclo celular y la apoptosis a través del modelamiento de la red biológica de una célula tumoral* [Unpublished undergraduate thesis]. Pontificia Universidad Javeriana Cali.
15. Sanhaji, M., Friel, C. T., Wordeman, L., Louwen, F., & Yuan, J. (2011). Mitotic centromere-associated kinesin (MCAK): a potential cancer drug target. *Oncotarget*, 2(12), 935–947. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.416>
16. Aldwaik, R. K., Shian, D., Thapa, R., Vasudevan, S., Ashqar, M. A., Reich, E., Kravchenko-Balasha, N., & Klutstein, M. (2023a). Overexpressed kinetochore genes are used by cancer cells as genome destabilizers and transformation catalysts. *Translational Oncology*, 34, 101703. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2023.101703>
17. Marques, S., Fonseca, J., Silva, P., & Bousbaa, H. (2015). Targeting the Spindle Assembly Checkpoint for Breast Cancer Treatment. *Current Cancer Drug Targets*, 15(4), 272–281. <https://doi.org/10.2174/1568009615666150302130010>
18. Zhang, W., Mao, J., Zhu, W., Jain, A. K., Liu, K., Brown, J. B., & Karpen, G. H. (2016). Centromere and kinetochore gene misexpression predicts cancer patient survival and response to radiotherapy and chemotherapy. *Nature Communications*, 7(1), Article 12619. <https://doi.org/10.1038/ncomms12619>
19. Maan, M., Agrawal, N. J., Padmanabhan, J., Leitzinger, C. C., Rivera-Rivera, Y., Saavedra, H. I., & Chellappan, S. P. (2020). Tank Binding Kinase 1 modulates spindle assembly checkpoint components to regulate mitosis in breast and lung cancer cells. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1868(3), 118929. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2020.118929>
20. Aldwaik, R. K., Shian, D., Thapa, R., Vasudevan, S., Ashqar, M. A., Reich, E., Kravchenko-Balasha, N., & Klutstein, M. (2023). Overexpressed kinetochore genes are used by cancer cells as genome destabilizers and transformation catalysts. *Translational Oncology*, 34, 101703. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2023.101703>
21. Ibrahim, A., Miligy, I. M., Toss, M. S., Green, A. R., & Rakha, E. A. (2023). High Inner Centromere Protein Expression Correlates with Aggressive Features and Predicts Poor Prognosis in Patients with Invasive Breast Cancer. *Pathobiology*, 90(6), 377–388. <https://doi.org/10.1159/000529628>
22. Zhang, J., Ma, J., Li, Y., An, Y., Du, W., Yang, Q., Huang, M., & Cai, X. (2024). Overexpression of Aurora Kinase B Is Correlated with Diagnosis and Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *International Journal Of Molecular Sciences*, 25(4), 2199. <https://doi.org/10.3390/ijms25042199>
23. Marcu, A., Cortese, N., Greco, D., & Bignotti, E. (2023). An updated overview of existing cancer databases and identified needs. *Biology*, 12(8), 1152. <https://doi.org/10.3390/biology12081152>
24. Zhang, Y., Zheng, L., Ding, Y., Li, Y., Wang, S., Chen, D., & Li, Y. (2023). Multi-omics analysis

- identifies potential mechanisms of AURKB in mediating poor outcome of lung adenocarcinoma. *Aging*, 15(24), 11759–11784. <https://www.aging-us.com/article/202517/text>
25. Kim, S., Kim, Y., & Lee, H. (2021). KMDATA: A curated database of reconstructed individual patient-level data from 153 oncology clinical trials. *Database*, 2021, baab037. <https://doi.org/10.1093/database/baab037>
 26. The Cancer Genome Atlas. (n.d.). *phs000178*. OmicsDI. Retrieved June 2, 2025, from <https://www.omicsdi.org/dataset/dbgap/phs000178>
 27. Bayat, S., Hajjaran, S., Zangouei, F., & Shafiei, M. (2024). Overexpression of CDC25A, AURKB, and TOP2A genes could be an important clue for luminal A breast cancer. *BMC Cancer*, 24, Article 672. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11589183/>
 28. Orengo-Orengo, J. A., Cruz, M., Aquino, A., & Saavedra, H. I. (2024). Abstract C151: Single and combined inhibition of AURKA and AURKB promotes a decrease in the expression of EMT biomarkers and transcription factors in triple-negative breast cancer in women of African ancestry. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 33(9_Supplement), C151. <https://doi.org/10.1158/1538-7755.disp24-c151>
 29. Kaya, M., Abuaisha, A., Suer, I., Emiroglu, S., Önder, S., Ucar, E. O., Yenerel, M. N., Palanduz, S., Cefle, K., Ozturk, S., & Kurt, Z. (2025). Let-7b-5p sensitizes breast cancer cells to doxorubicin through Aurora Kinase B. *PLoS ONE*, 20(1), e0307420. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307420>
 30. Gillett, E. S., Espelin, C. W., & Sorger, P. K. (2004). Spindle checkpoint proteins and chromosome–microtubule attachment in budding yeast. *The Journal Of Cell Biology*, 164(4), 535–546. <https://doi.org/10.1083/jcb.200308100>
 31. The Gene Ontology Consortium. (n.d.). *GO:0007094 spindle checkpoint*. QuickGO. Retrieved June 2, 2025, from <https://www.ebi.ac.uk/QuickGO/term/GO:0007094>
 32. Reactome. (n.d.). *Mitotic spindle checkpoint (R-HSA-69618)*. Retrieved June 2, 2025, from <https://reactome.org/content/detail/R-HSA-69618>
 33. Barbosa, J., Nascimento, A. V., Faria, J., Silva, P., & Bousbaa, H. (2011). The spindle assembly checkpoint: perspectives in tumorigenesis and cancer therapy. *Frontiers In Biology*, 6(2), 147–155. <https://doi.org/10.1007/s11515-011-1122-x>
 34. Gillett, E. S., Espelin, C. W., & Sorger, P. K. (2004). Spindle checkpoint proteins and chromosome–microtubule attachment in budding yeast. *The Journal Of Cell Biology*, 164(4), 535–546. <https://doi.org/10.1083/jcb.200308100>
 35. Huang, H., Shi, J., Orth, J. D., & Mitchison, T. J. (2009). Evidence that Mitotic Exit Is a Better Cancer Therapeutic Target Than Spindle Assembly. *Cancer Cell*, 16(4), 347–358. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.08.020>
 36. Abcam. (2023). *Anti-Mad2L1 antibody (ab97777)*. Retrieved June 2, 2025, from <https://www.abcam.com/en-us/products/primary-antibodies/mad211-antibody-ab97777>
 37. Cancer Genetics Web. (n.d.). *MAD2L1*. Retrieved June 2, 2025, from <http://www.cancerindex.org/geneweb/MAD2L1.htm>
 38. Schrock, M. S., Stromberg, B. R., Scarberry, L., & Summers, M. K. (2020). APC/C ubiquitin ligase: Functions and mechanisms in tumorigenesis. *Seminars In Cancer Biology*, 67(Pt 2), 80–91. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.03.001>
 39. Elsevier. (n.d.). *Scopus*. Retrieved June 2, 2025, from <https://www.scopus.com>
 40. Nature Portfolio. (n.d.). *Nature*. Retrieved June 2, 2025, from <https://www.nature.com>
 41. U.S. National Library of Medicine. (n.d.). *PubMed*. National Center for Biotechnology Information. Retrieved June 2, 2025, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>
 42. Van Landeghem, S., Björne, J., Wei, C.-H., Hakala, K., Pyysalo, S., Ananiadou, S., Kao, H.-Y., Lu, Z., & Salakoski, T. (2013). *EVEX: Event extraction from literature for biology*. EVEX. <http://evexdb.org>
 43. The Gene Ontology Consortium. (2021). The Gene Ontology resource: Enriching a GOLD

- mine. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D325–D334. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1113>
44. Jassal, B., Matthews, L., Viteri, G., Gong, C., Lorente, P., Fabregat, A., D'Eustachio, P. (2020). The Reactome pathway knowledgebase. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D498–D503. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz1031>
 45. Karp, P. D., Billington, R., Caspi, R., Fulcher, C., Latendresse, M., Kothari, A., ...Keseler, I. M. (2019). The BioCyc collection of microbial genomes and metabolic pathways. *Briefings in Bioinformatics*, 20(4), 1085–1093. <https://doi.org/10.1093/bib/bbx085>
 46. Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Kawashima, M., & Ishiguro-Watanabe, M. (2023). KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D587–D592. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>
 47. Chandrashekar, D. S., Karthikeyan, S. K., Korla, P. K., Patel, H., Shovon, A. R., Athar, M., & Varambally, S. (2022). UALCAN: An update to the integrated cancer data analysis platform. *Neoplasia*, 25, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2022.01.001>
 48. Matsuoka, Y., Funahashi, A., Ghosh, S., & Kitano, H. (2014). Modeling and simulation using CellDesigner. In E. Miyamoto-Sato, Y. Saito, T. Shimizu, & M. Tomita (Eds.), *Transcription factor regulatory networks: Methods and protocols* (Vol. 1164, pp. 121–145). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0805-9_11
 49. Kreis, N.-N., Moon, H. H., Wordeman, L., Louwen, F., Solbach, C., Yuan, J., & Ritter, A. (2024). KIF2C/MCAK: a prognostic biomarker and its oncogenic potential in malignant progression and prognosis of cancer patients – a systematic review and meta-analysis as a biomarker. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 61(6), 404–434. <https://doi.org/10.1080/10408363.2024.2309933>
 50. Zhang, X., Li, Y., Hu, P., Xu, L., & Qiu, H. (2022). KIF2C is a Biomarker Correlated With Prognosis and Immunosuppressive Microenvironment in Human Tumors. *Frontiers In Genetics*, 13, Article 891408. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.891408>
 51. Zhu, H. (2024). KIF2C is a critical regulator for malignant progression of head and neck squamous cell carcinoma. *American Journal Of Cancer Research*, 14(5), 2538–2554. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11140867/>
 52. Shi, Y., Dai, P., Jiang, Y., Wang, Y., & Liu, W. (2023). A pan-cancer landscape of centromere proteins in tumorigenesis and anticancer drug sensitivity. *Translational Oncology*, 31, 101658. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2023.101658>
 53. Manning, A. L., Ganem, N. J., Bakhoun, S. F., Wagenbach, M., Wordeman, L., & Compton, D. A. (2007). The kinesin-13 proteins Kif2a, Kif2b, and Kif2c/MCAK have distinct roles during mitosis in human cells. *Molecular Biology of the Cell*, 18(8), 2970–2979. <https://doi.org/10.1091/mbc.E07-02-0110>
 54. The UniProt Consortium. (2024, January 10). *KIF2C_HUMAN (Q99661)*. UniProt Knowledgebase. Retrieved May 16, 2025, from <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q99661/entry>
 55. Rodrigues-Ferreira, S., Morin, M., Guichaoua, G., Moindjie, H., Haykal, M. M., Collier, O., Stoven, V., & Nahmias, C. (2023). A Network of 17 Microtubule-Related Genes Highlights Functional Deregulations in Breast Cancer. *Cancers*, 15(19), 4870. <https://doi.org/10.3390/cancers15194870>
 56. Nasmyth, K., Peters, J.-M., & Uhlmann, F. (2000). Splitting the Chromosome: Cutting the Ties That Bind Sister Chromatids. *Science*, 288(5470), 1379–1384. <https://doi.org/10.1126/science.288.5470.1379>
 57. Cleveland, D. W., Mao, Y., & Sullivan, K. F. (2003). Centromeres and Kinetochores. *Cell*, 112(4), 407–421. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00115-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00115-6)