

Implicaciones del ARN no codificante en biología y evolución: desde los primeros homínidos hasta los humanos modernos - Revisión

Gabriel Dorado ¹, Fernando Luque ², Plácido Pascual ³, Inmaculada Jiménez ⁴, Francisco Javier S. Sánchez-Cañete ⁵, Patricia Raya ⁶, Jesús Sáiz ⁷, Adela Sánchez ⁷, Teresa E. Rosales ⁸, Víctor F. Vásquez ⁹, Pilar Hernández ¹⁰

¹ Autor para correspondencia, Dep. Bioquímica y Biología Molecular, Campus Rabanales C6-1-E17, Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (ceiA3), Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba (Spain), eMail: <bb1dopeg@uco.es>; ² Laboratorio de Producción y Sanidad Animal de Córdoba, Ctra. Madrid-Cádiz km 395, 14071 Córdoba; ³ Laboratorio Agroalimentario de Córdoba, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, 14004 Córdoba; ⁴ IES Puertas del Campo, Avda. San Juan de Dios 1, 51001 Ceuta; ⁵ EE.PP. Sagrada Familia de Baena, Avda. Padre Villoslada 22, 14850 Baena (Córdoba); ⁶ Dep. Radiología y Medicina Física, Unidad de Física Médica, Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal s/n, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba; ⁷ Dep. Farmacología, Toxicología y Medicina Legal y Forense, Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal, s/n, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba; ⁸ Laboratorio de Arqueobiología, Avda. Universitaria s/n, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo (Perú); ⁹ Centro de Investigaciones Arqueobiológicas y Paleoecológicas Andinas Arqueobios, Apartado Postal 595, Trujillo (Perú); ¹⁰ Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Alameda del Obispo s/n, 14080 Córdoba

Resumen

La secuenciación genómica/transcriptómica masiva ha revelado una paradoja impactante: la transcripción generalizada o espuria. Aunque tal evento es no deseado en principio, algunos de tales transcritos pueden escapar de la degradación, siendo seleccionados por la evolución, con consecuencias fascinantes en biología, incluido el desarrollo de nuestro cerebro y lo que nos hizo humanos. De hecho, el ARN no codificante está involucrado en muchos procesos reguladores, a través de todo el dogma central de la biología molecular, e incluso en eventos epigenéticos. Curiosamente, ello se logra parcialmente regulando la expresión y la función de ARN pequeños, como los miARN. Más sorprendentemente, el ARN no codificante está involucrado en la fisiología de las neuronas y la neurogénesis cerebral, incluyendo las excrecencias o proyecciones neuronales, funciones sinápticas y traducción en sinapsis. Además, el ARN no codificante puede exportarse-importarse entre células, a través de vesículas de exosomas. Sorprendentemente, algunos ARN no codificantes se traducen en micropéptidos, que pueden estar involucrados en el desarrollo del cerebro. Todo eso permite el notable poder cognitivo del cerebro humano. Desafortunadamente, este desarrollo exquisito, que nos hizo humanos, es especialmente propenso a perturbaciones internas y externas. Así, pueden generarse trastornos del neurodesarrollo, neurodegenerativos y neuropsiquiátricos, a los cuales los humanos somos más propensos que otros primates.

Palabras clave: secuenciación de segunda generación, SSG, secuenciación de tercera generación, STG, secuenciación de próxima generación, SPG, ARN antiguo, ARNa.

Abstract

Massive genomic/transcriptomic sequencing has revealed a shocking paradox: pervasive or spurious transcription. Although such event is unwanted in principle, some of such transcripts may escape degradation, being further selected by evolution, with fascinating consequences on biology, including our brain development and what made us humans. Indeed, non-coding RNA are involved in many regulatory processes, across the central dogma of molecular biology, and even epigenetics events. Interestingly, that is partially accomplished regulating the expression and function of small RNA, like miRNA. More strikingly, non-coding RNA are involved in neuron physiology and brain neurogenesis, including outgrowth or neuron projections, synaptic functions and translation in synapses. Besides, non-coding RNA can be exported-imported between cells, through exosome vesicles. Surprisingly, some non-coding RNA are indeed translated into micropeptides, which may be involved in brain development. All that allows the remarkable cognitive power of the human brain. Unfortunately, this exquisite development, that made us humans, is specially prone to internal and external perturbations. They may generate neurodevelopmental, neurodegenerative and neuropsychiatric disorders, to which humans are more prone than other primates.

Keywords: second-generation sequencing, SGS, third-generation sequencing, TGS, next-generation sequencing, NGS, ancient RNA, aRNA.

Introducción

Recientemente hemos revisado el fascinante tema de lo que nos hizo humanos; la evolución de los primeros homínidos a los humanos modernos (Dorado et al, 2018), dentro de la interesante interacción de la bioarqueología y la biología molecular (Dorado et al, 2007-2019). En resumen, la duplicación, reparación y conversión de genes derivados de homólogos de muesca 2 (*NOTCH2*; del inglés, “Notch Homolog 2”), denominados genes similares a N terminal de homólogos de muesca 2 (*NOTCH2NL*; del inglés, “Notch Homolog 2 N-terminal-Like”) estuvieron involucrados en una transformación tan notable (Fiddes et al, 2018; Suzuki et al, 2018). La consecuencia fue la expansión de la corteza cerebral. Desafortunadamente, eso también estaba relacionado con enfermedades recurrentes del neurodesarrollo, a las que los humanos son especialmente propensos, en comparación con otros animales.

Pero hay más. También se ha descubierto que otros cambios biológicos durante la evolución orgánica en el planeta Tierra también pueden haber contribuido a hacernos humanos. Eso implica al dogma central de la biología molecular: el ADN produce ARN que produce proteínas, aunque –

sorprendentemente— no como se pensaba o concebía inicialmente, como se explica a continuación.

Evolución histórica del concepto de gen

Gregor Johann Mendel (1865) descubrió las leyes de la herencia de los factores genéticos que generan el fenotipo. Pero, ¿cuál es la base química de un fenómeno tan notable? Friedrich Miescher (1871) descubrió que había un compuesto especialmente ácido dentro del núcleo (nucleína) de los linfocitos encontrados en los esputos de pacientes con tuberculosis. Pero, ¿correspondía eso con los factores de herencia de Mendel? Frederick Griffith (1928) descubrió que era posible transformar un neumococo inofensivo “rugoso” (R) en virulento “lisos” (S) que mataba ratones.

En esa época, se pensaba que tal principio transformante deberían ser proteínas, ya que son ricas en conformaciones y funciones. Sin embargo, Oswald Theodore Avery, Colin Munro MacLeod y Maclyn McCarty (1944) encontraron algo inesperadamente impactante: la molécula transformante era ADN, que, entonces se consideraba un compuesto repetitivo no relevante que, por lo tanto, no podía contener información genética. No sabían que es posible “construir el mundo” con solo dos variantes, como funcionan los ordenadores en modo binario (0 y 1). Además, Alfred Day Hershey y su ayudante de laboratorio Martha Cowles Chase (1952) confirmaron dicha hipótesis, convirtiéndola en una teoría validada.

El siguiente paso fue dilucidar la estructura 3D del ADN. Erwin Chargaff (1950) descubrió que la cantidad de purinas (A + G) equivalía a la cantidad de pirimidinas (C + T), aunque la razón era un misterio en ese momento. Luego vinieron Francis Crick y James D. Watson que, usando resultados inéditos de difracción de rayos X del ADN de Rosalind Elsie Franklin, realizados por su doctorando Raymond George Gosling (1953), propusieron la estructura de doble hélice para dicha molécula.

Por otro lado, el concepto de gen ha cambiado con el tiempo (Figura 1). Charles Robert Darwin y su amigo y colega Alfred Russel Wallace (1858) propusieron una hipótesis revolucionaria: el origen de las especies por selección natural. El término “gen” lo acuñó Wilhelm Johannsen (1905). Thomas Hunt Morgan (1910) descubrió que los genes están dentro de los cromosomas, y se duplican y transmiten durante la replicación celular. George Wells Beadle y Edward Lawrie Tatum (1941) propusieron la popular hipótesis de un gen: una enzima. Más tarde, el gen se asoció a uno o varios marcos abiertos de lectura (ORF; del inglés, “Open Reading Frames”), codificando uno o varios polipéptidos, respectivamente, y posteriormente, se consideró una unidad transcripcional (Cipriano y Ballarino, 2018). Pero todo ese conocimiento ha sido sacudido con el descubrimiento de la transcripción generalizada o espuria, como se describe a continuación.

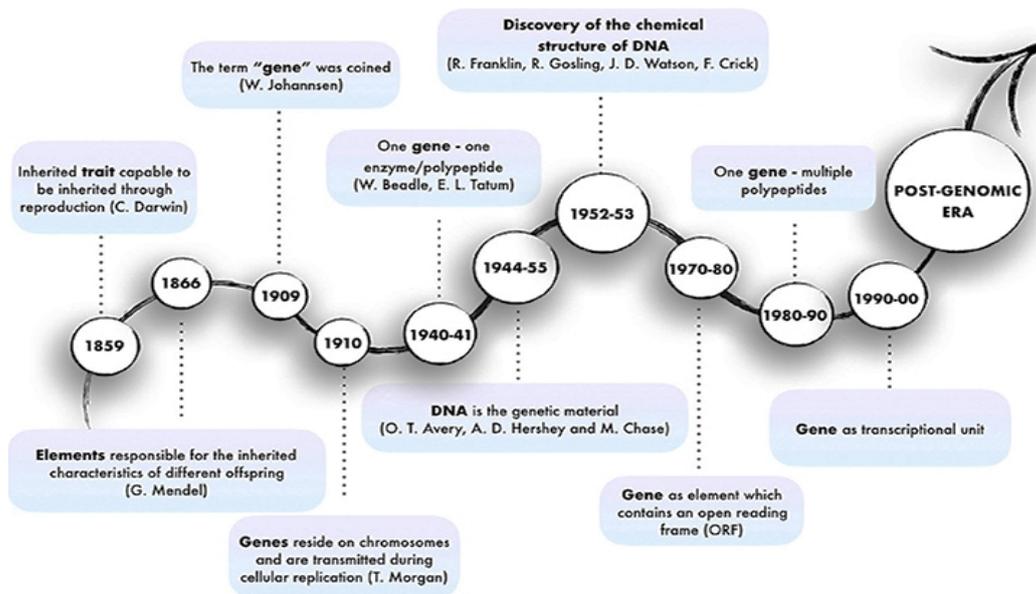


Figura 1.- Evolución histórica del concepto de gen. Un gen fue considerado el material genético que codifica una enzima; y luego, una unidad transcripcional. Pero más tarde, la secuenciación masiva de genomas/transcriptomas trajo la paradoja de la transcripción espuria de ARN, como se describe a continuación. © Frontiers Media (Cipriano y Ballarino, 2018).

La paradoja de la transcripción de ARN espurio

Inicialmente, se pensó que la transcripción solo tenía lugar para: i) genes que codifican proteínas, copiados en ácido ribonucleico mensajero (ARNm); ii) ADN ribosómico (ADNr), que genera ARN ribosómico (ARNr); y iii) ADN transferente (ADNt), produciendo ARN transferente (ARNt). Pero las últimas plataformas de secuenciación de alto rendimiento que hemos revisado (Dorado et al, 2007, 2008, 2013, 2015, 2016) han revelado hechos sorprendentes (Mattick, 2011, 2012; Gomes et al, 2019): i) ~1% del genoma humano genera transcritos codificantes de proteínas (~20.000 genes; similar a los nematodos, que tienen ~ 1.000 células); y sin embargo ii) al menos el 93% del genoma (tal vez todo) tiene transcripción generalizada o espuria (Figura 2).

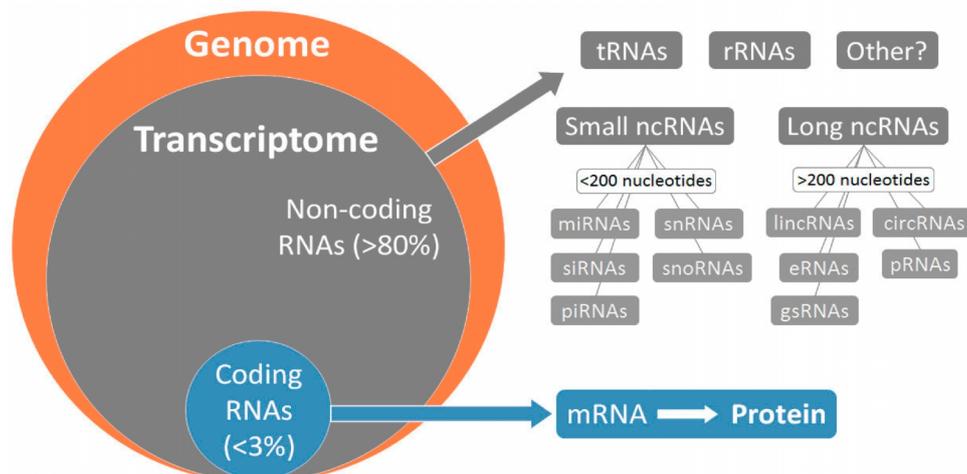


Figura 2.- Transcripción generalizada. La mayor parte de la transcripción corresponde al ARN no codificante. © MDPI (Gomes et al, 2019).

También existe una relación entre el ARN codificante y el no codificante a lo largo del dogma central de la biología molecular (Guennewig y Cooper, 2014), como se muestra a continuación (Figura 3).

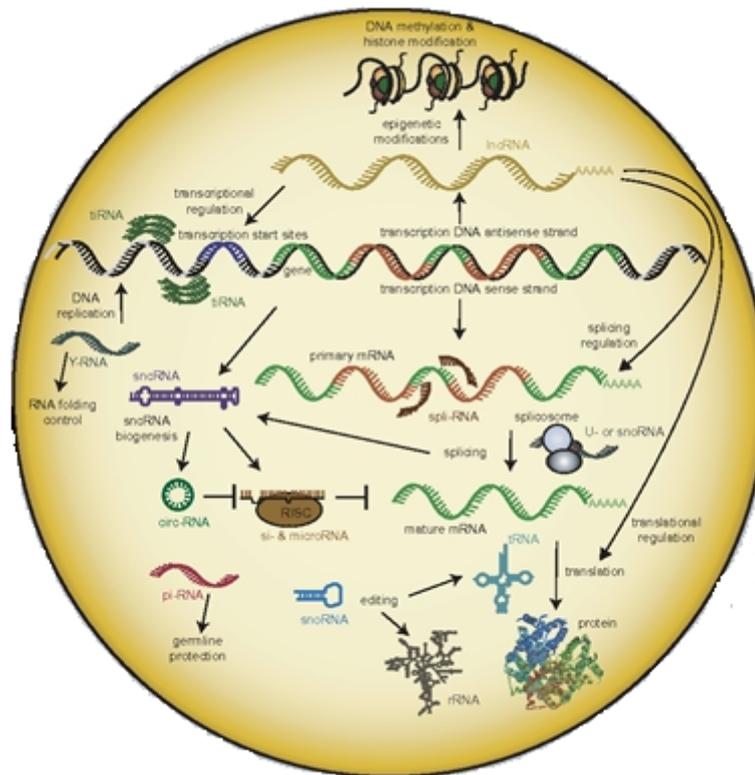


Figura 3.- Transcripción de ARN codificante y no codificante. Investigaciones recientes han demostrado implicaciones interesantes de algunos ARN no codificantes, en relación con los codificantes. © Elsevier (Guennewig y Cooper, 2014).

Sin embargo, dicha transcripción generalizada representa una enorme carga energética para las células, que se han seleccionado durante 3,8 billardos de años de evolución biológica, para optimizar los recursos tanto como sea posible. Entonces, ¿qué está impulsando tal transcripción “no deseada”? Simplemente, los mecanismos de regulación celular no son 100% eficientes, debido a la naturaleza probabilística de las interacciones moleculares. Paradójicamente, eso permite la vida. En otras palabras, si los eventos moleculares fueran 100% precisos, controlados, regulados y eficientes, la vida no existiría. Ni siquiera existiría el Universo si las anomalías no existieran a nivel cuántico y más allá. Las incertidumbres y el caos han permitido la existencia de todo, incluida la vida. Luego, el azar y la necesidad han moldeado la biodiversidad, a través de la lucha por recursos limitados, la supervivencia de los mejor adaptados, la selección reproductiva y la evolución de las especies, como hemos revisado (Dorado et al, 2018).

Por lo tanto, dado que el control de los procesos celulares con 100% de eficiencia no es posible, surge la transcripción generalizada o espuria, que representa una carga energética significativa para la célula. Tanto los

procariotas como los eucariotas (incluidas sus mitocondrias y cloroplastos) intentan degradar el ARN transcrito “no deseado”, a través de RiboNucleasas (RNasas) y complejos de exosomas (que no deben confundirse con las vesículas de exosoma, como se indica posteriormente). De hecho, la transcripción incontrolada o espuria puede causar la detención del crecimiento y muerte en los procariotas, así como enfermedades como el cáncer en eucariotas. Pero, nuevamente, ningún proceso celular es 100% eficiente. Como consecuencia, algunos de estos ARN espurios pueden escapar de su degradación programada, siendo seleccionados por la evolución, con resultados fascinantes. De hecho, el ARN no codificante (ARNnc) puede interactuar con ADN, ARN y péptidos (oligopéptidos y polipéptidos como proteínas). Tal versatilidad pleiotrópica permite un nivel sofisticado y preciso de regulación de la expresión génica, a lo largo del dogma central de la biología molecular, como se muestra a continuación.

Eso no es sorprendente cuando se tiene en cuenta que el ARN no solo transporta información genética, sino que se comporta como una enzima; es decir, tiene actividad catalítica. De hecho, se cree que la vida comenzó en el planeta Tierra como un mundo de ARN (Darnell y Doolittle 1986). De ahí la participación del ARN no codificante en la multicelularidad y diferenciación celular a lo largo de la evolución biológica (Hart y Goff, 2016). En otras palabras, el antiguo sistema de ARN pequeños (ARNp) podría haberse originado como un supervisor transcripcional y postranscripcional. Pero evolucionó aún más, llegando a ser controlado por ARN no codificante que funciona como una nueva capa de regulación (Barry, 2014; Guennewig y Cooper, 2014).

Implicaciones de la transcripción espuria del ARN en del desarrollo del cerebro

El transcriptoma codificante –y por tanto, el proteoma– se han mantenido en gran medida constantes a lo largo de la evolución, en comparación con el transcriptoma no codificante (Barry, 2014). De hecho, existe una sorprendente correlación positiva entre la complejidad orgánica y la diversidad y abundancia del ARN no codificante (Barry, 2014; Guennewig y Cooper, 2014). Dicha expansión del ARN no codificante abarca familias pequeñas y grandes (incluyendo ARN circular). Curiosamente, dicha correlación positiva existe también en relación con el tamaño del cerebro y –más significativamente– la evolución cognitiva (Figura 4). De hecho, los procariotas tienen un alto porcentaje de genes codificantes (hasta 99,5%) en sus genomas, lo cual se reduce significativamente en protistas (10 a 75%) y metazoos (animales; 1 a 27%), y especialmente en primates (1 a 2%).

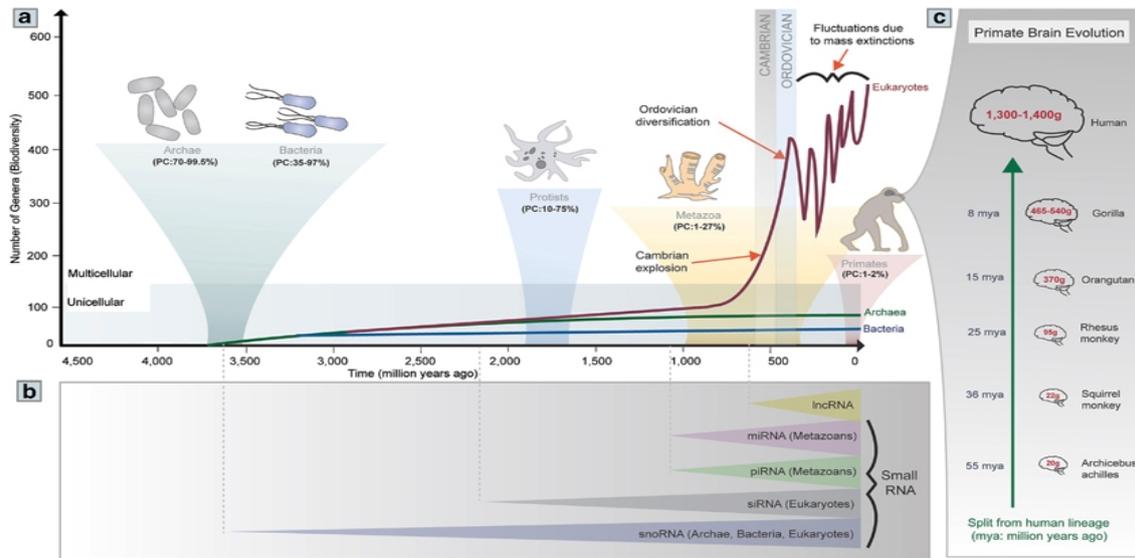


Figura 4.- ARN no codificante y complejidad orgánica. El gráfico muestra la interesante correlación positiva entre el aumento del ARN no codificante y la complejidad orgánica, con especial relevancia para el tamaño del cerebro y la evolución cognitiva. © Springer y Elsevier (Barry, 2014; Guennewig y Cooper, 2014).

El ARN no codificante está involucrado en muchos eventos reguladores, incluidos los epigenéticos (Figura 5), como la modificación y remodelación de la cromatina, ajustamiento (del inglés, “splicing”, edición, transcripción y traducción del ARN (Zimmer-Bensch, 2019).

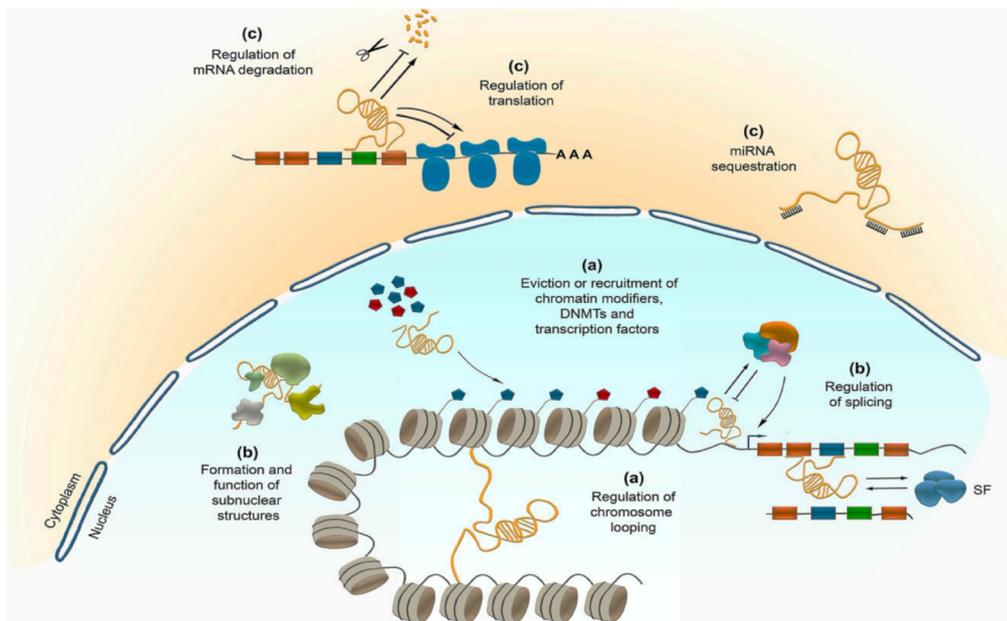


Figura 5.- Regulación del dogma central de la biología molecular por ARN no codificante. Dicha funcionalidad implica eventos transcripcionales (a) y postranscripcionales (b) en el núcleo, así como eventos traducionales y postraducionales en el citoplasma (c). © MDPI (Zimmer-Bensch, 2019).

Curiosamente, dicho control de la expresión génica está mediado en parte por la regulación de la expresión y la función de ARN efectores (ARNe) conservados evolutivamente, como los microARN (miARN) (Barry, 2014), como se muestra a continuación (Figura 6).

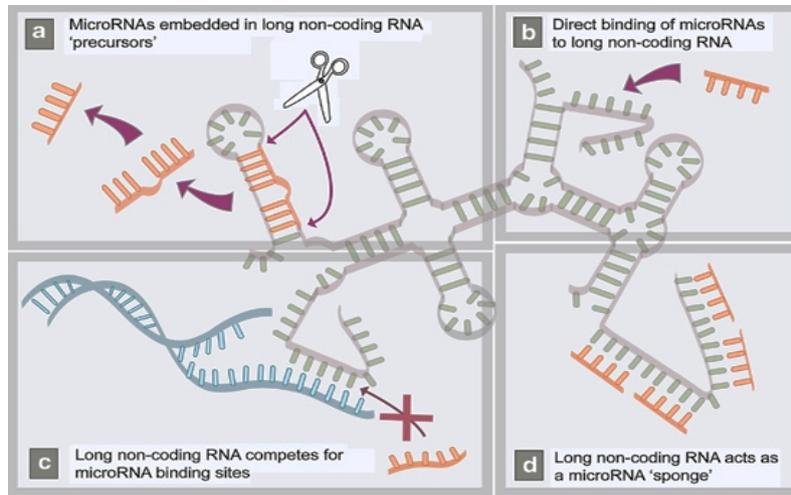


Figura 6.- Interacciones de diferentes ARN no codificantes implicados en la regulación de la expresión génica. El ARN largo no codificante (ARNlnc) puede: i) generar (a) y ii) unir algunos (b) o iii) muchos (d) miARN, comportándose como “esponjas” que regulan su actividad, así como iv) competir con ellos en los sitios de unión (c). © Springer (Barry, 2014).

Como se indicó anteriormente, se ha encontrado que el ARN no codificante está involucrado en el desarrollo del cerebro, incluido el crecimiento de las proyecciones del cuerpo celular de las neuronas (conocidas como neuritas o procesos neuronales) y las sinapsis (Figura 7). Los informes al respecto incluyen: i) ARNlnc asociado a potenciador (ARNp); ii) modulaciones transcripcionales y postranscripcionales después de la despolarización, involucradas en la plasticidad neuronal; y iii) represión de la traducción de ARNm en péptidos en sinapsis (Zimmer-Bensch, 2019).

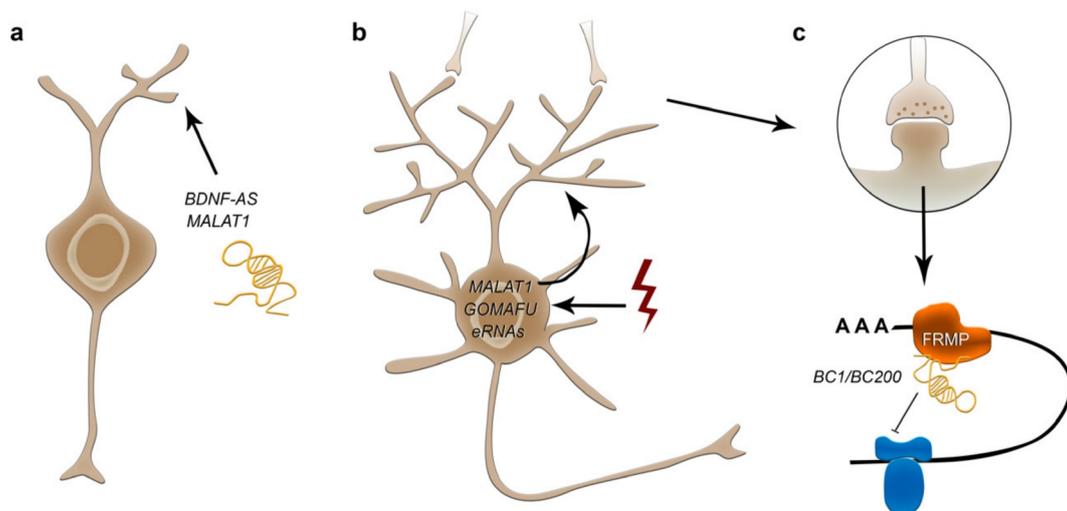


Figura 7.- Implicación del ARN no codificante en la fisiología neuronal. Se han descrito diferentes actividades, como el crecimiento o las proyecciones de neuronas (a), las funciones sinápticas (b) y la traducción en sinapsis (c). © MDPI (Zimmer-Bensch, 2019).

Por lo tanto, las actividades del ARN no codificante modulan la neurogénesis cerebral, como se muestra a continuación (Figura 8). Las neuronas, los progenitores intermedios y las células de la glía radial basal son producidas por células madre (conocidas como glía radial), ubicadas en la zona ventricular (ZV). Curiosamente, la zona subventricular (ZSV) de los ratones se expande significativamente en zonas internas (ZSVi) y externas (ZSVe) en humanos. Las neuronas posmitóticas migran hacia la placa cortical (PC). No resulta sorprendente que la corteza cerebral humana esté muy plegada, lo que aumenta enormemente su área. Diferentes ARN no codificantes están involucrados en los siguientes eventos de las células progenitoras neurales: i) impulsar la diferenciación; ii) regular el equilibrio de autorrenovación versus diferenciación; y iii) controlar la diferenciación de las células delaminadoras basales, a través de la regulación del recambio.

Debe tenerse en cuenta que el ARN no codificante puede exportarse-importarse entre células, a través de vesículas de exosomas, que no deben confundirse con los complejos de exosomas, como se indicó anteriormente (Théry, 2011). Dicha comunicación intercelular es un mecanismo poderoso que mejora las propiedades postsinápticas, permitiendo el particular poder cognitivo del cerebro humano (Zimmer-Bensch, 2019).

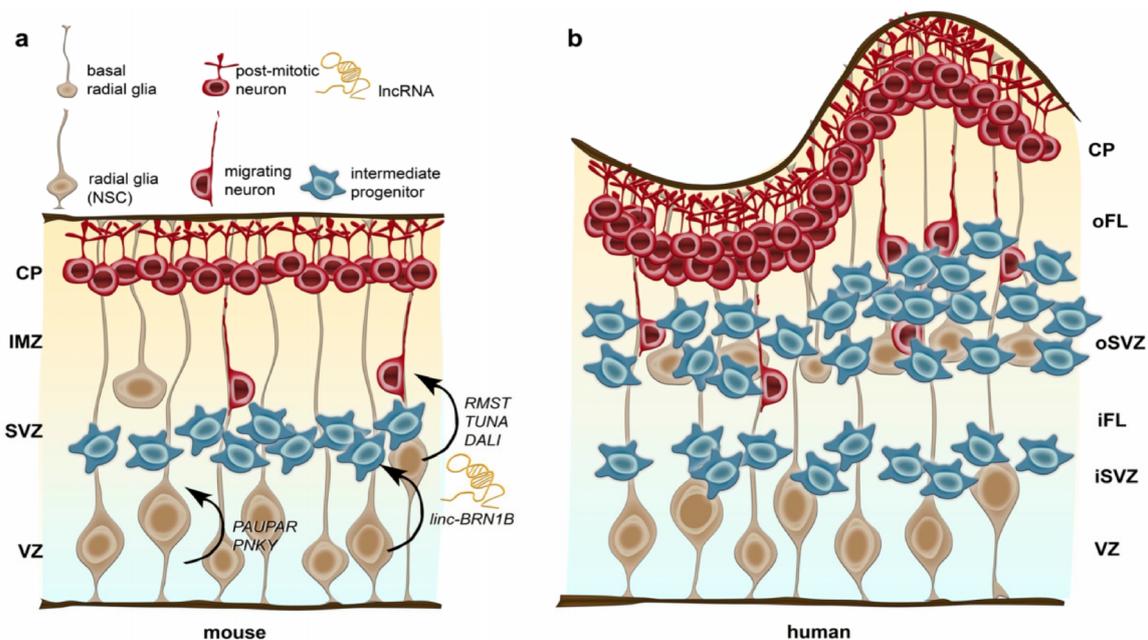


Figura 8.- Implicación del ARN no codificante en la neurogénesis cerebral. Se muestran ejemplos de corteza cerebral de ratón (a) y humana (b). © MDPI (Zimmer-Bensch, 2019).

Desafortunadamente, tal exquisita sofisticación y complejidad que nos hizo humanos también es propensa a gran cantidad de perturbaciones internas y externas. A veces, pueden desencadenar cambios evolutivos útiles, como hemos revisado recientemente en relación con la evolución de los primeros homínidos a los humanos modernos (Dorado et al, 2018). Pero, lo más probable –como sucede con las mutaciones– es que sean nocivas y generen

trastornos del desarrollo neurológico, neurodegenerativo y neuropsiquiátrico, como el autismo y la esquizofrenia. Todo eso resalta la complejidad y fragilidad únicas del cerebro humano (Mattick, 2011, 2012; Barry, 2014; Guennewig y Cooper, 2014; Zimmer-Bensch, 2019).

Conclusiones finales y perspectivas de futuro

Se considera que el cerebro humano contiene más de 85 millardos de neuronas, interconectadas con 10 veces más sinapsis (Guennewig y Cooper, 2014). Sin embargo, parece que no solo eso nos hizo humanos. Los avances en la secuenciación de ácidos nucleicos de los últimos años, a los que hemos contribuido (Lario et al, 1997), están descubriendo un escenario alucinante. Ahora se considera que el ARN no codificante ha desempeñado un papel central en el desarrollo de la complejidad del organismo, en general, así como también en el aumento del tamaño del cerebro y –lo que es más significativo– la capacidad cognitiva que nos convirtió en humanos, en particular. Este nuevo conocimiento desafía las concepciones previas de la evolución biológica responsable del origen de la humanidad. Parece ahora que la epigenética ha jugado, y está desempeñando, un papel relevante en la regulación de la expresión génica, en general, y en el cerebro, en particular. Algunos incluso lo han propuesto como un mecanismo que contribuye a una herencia plástica y dinámica (Mattick, 2011, 2012). La posibilidad futura de secuenciar directamente el ARN antiguo (ARNa), que hemos revisado (Dorado et al, 2016), cobra especial relevancia en este escenario. Aún más, aunque inicialmente se pensó que el llamado ARN no codificante no codificaba péptidos (como su nombre indica), recientemente se ha descubierto que algunos de ellos realmente codifican péptidos cortos funcionales (micropéptidos). Más importante aún, algunos de ellos están involucrados en el desarrollo del cerebro (Zimmer-Bensch, 2019). ¡Las perspectivas futuras de investigación en estas áreas son fascinantes!

Agradecimientos. Financiado por Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto MINECO BIO2015-64737-R) e Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (MINECO e INIA RF2012-00002-C02-02); Consejería de Agricultura y Pesca (041/C/2007, 75/C/2009 y 56/C/2010), Consejería de Economía, Innovación y Ciencia (P11-AGR-7322 y P12-AGR-0482) y Grupo PAI (AGR-248) de Junta de Andalucía; y Universidad de Córdoba (Ayuda a Grupos), Spain.

Referencias bibliográficas

- Barry G (2014): Integrating the roles of long and small non-coding RNA in brain function and disease. *Mol Psychiatry* 19:410-416-
- Cipriano A, Ballarino M (2018): The ever-evolving concept of the gene: the use of RNA/protein experimental techniques to understand genome functions. *Front Mol Biosci* 5: 20 (16 pp).
- Darnell JE, Doolittle WF (1986): Speculations on the early course of evolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 1271-1275.

- Dorado G, Jiménez I, Rey I, Sánchez-Cañete FJS, Luque F, Morales A, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2013): Genomics and proteomics in bioarchaeology - Review. *Archaeobios* 7: 47-63.
- Dorado G, Luque F, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Pérez-Jiménez M, Raya P, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2015): Second-generation nucleic-acid sequencing and bioarchaeology - Review. *Archaeobios* 9: 216-230.
- Dorado G, Luque F, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Pérez-Jiménez M, Raya P, Sáiz J, Sánchez A, Martín J, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2016): Sequencing ancient RNA in bioarchaeology - Review. *Archaeobios* 10: 103-111.
- Dorado G, Luque F, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Raya P, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF (2017): Clustered Regularly-Interspaced Short-Palindromic Repeats (CRISPR) in bioarchaeology - Review. *Archaeobios* 11: 179-188.
- Dorado G, Luque F, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Raya P, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2018): Evolution from first hominids to modern humans: philosophy, bioarchaeology and biology - Review. *Archaeobios* 12: 69-82.
- Dorado G, Luque F, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Raya P, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2019): Bioarchaeology to bring back scents from extinct plants - Review. *Archaeobios* 13: 66-75.
- Dorado G, Rey I, Rosales TE, Sánchez-Cañete FJS, Luque F, Jiménez I, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Vásquez VF (2009): Ancient DNA to decipher the domestication of dog - Review. *Archaeobios* 3: 127-132.
- Dorado G, Rey I, Rosales TE, Sánchez-Cañete FJS, Luque F, Jiménez I, Morales A, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Hernández P, Vásquez VF (2010): Biological mass extinctions on planet Earth – Review. *Archaeobios* 4: 53-64.
- Dorado G, Rosales TE, Luque F, Sánchez-Cañete FJS, Rey I, Jiménez I, Morales A, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Vásquez VF, Hernández P (2011): Ancient nucleic acids from maize - Review. *Archaeobios* 5: 21-28.
- Dorado G, Rosales TE, Luque F, Sánchez-Cañete FJS, Rey I, Jiménez I, Morales A, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Vásquez VF, Hernández P (2012): Isotopes in bioarchaeology - Review. *Archaeobios* 6: 79-91
- Dorado G, Sánchez-Cañete FJS, Pascual P, Jiménez I, Luque F, Pérez-Jiménez M, Raya P, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2014): Starch genomics and bioarchaeology - Review. *Archaeobios* 8: 41-50.

- Dorado G, Vásquez V, Rey I, Luque F, Jiménez I, Morales A, Gálvez M, Sáiz J, Sánchez A, Hernández P (2008): Sequencing ancient and modern genomes - Review. *Archaeobios* 2: 75-80.
- Dorado G, Vásquez V, Rey I, Vega JL (2007): Archaeology meets Molecular Biology – Review. *Archaeobios* 1: 1-2.
- Fiddes IT, Lodewijk GA, Mooring M, Bosworth CM, Ewing AD, Mantalas GL, Novak AM, VanDenBout A, Bishara A, Rosenkrantz JL, Lorig-Roach R, Field AR, Haeussler M, Russo L, Bhaduri A, Nowakowski TJ, Pollen AA, Dougherty ML, Nuttle X, Addor MC, Zwolinski S, Katzman S, Kriegstein A, Eichler EE, Salama SR, Jacobs FMJ, Haussler D (2018): Human-specific *NOTCH2NL* genes affect Notch signaling and cortical neurogenesis. *Cell* 173: 1356-1369.
- Gomes CPC, Agg B, Andova A, Arslan S, Baker A, Barteková M, Beis D, Betsou F, Bezzina-Wettinger S, Bugarski B, Condorelli G, da Silva GJJ, Danilin S, de Gonzalo-Calvo D, Buil A, Carmo-Fonseca M, Enguita FJ, Felekis K, Ferdinandy P, Gyöngyösi M, Hackl M, Karaduzovic-Hadziabdic K, Hellemans J, Heymans S, Hlavackova M, Hoydal MA, Jankovic A, Jusic A, Kardassis D, Kerkela R, Kuster GM, Lakkisto P, Leszek P, Lustrek M, Maegdefessel L, Martelli F, Novella S, O'Brien T, Papanepoytous C, Pedrazzini T, Pinet F, Popescu O, Potocnjak I, Robinson E, Sasson S, Scholz M, Simionescu M, Stoll M, Varga ZV, Vinciguerra M, Xuereb A, Yilmaz MB, Emanuelli C, Devaux Y (2019): Catalyzing transcriptomics research in cardiovascular disease: The CardioRNA COST Action CA17129. *Noncoding RNA* 5: 31 (13 pp).
- Guennewig B, Cooper AA (2014): The central role of noncoding RNA in the brain. *Int Rev Neurobiol* 116: 153-194.
- Hart RP, Goff LA (2016): Long noncoding RNAs: central to nervous system development. *Int J Dev Neurosci* 55:109-116.
- Lario A, González A, Dorado G (1997): Automated laser-induced fluorescence DNA sequencing: equalizing signal-to-noise ratios significantly enhances overall performance. *Analytical Biochemistry* 247: 30-33.
- Mattick JS (2011): The central role of RNA in human development and cognition. *FEBS Lett* 585: 1600-1616.
- Mattick JS (2012): Rocking the foundations of molecular genetics. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 16400-16401.
- Suzuki IK, Gacquer D, VanHeurck R, Kumar D, Wojno M, Bilheu A, Herpoel A, Lambert N, Cheron J, Polleux F, Detours V, Vanderhaeghen P (2018): Human-specific *NOTCH2NL* genes expand cortical neurogenesis through Delta/Notch Regulation. *Cell* 173: 1370-1384.

Théry C (2011): Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications. *F1000 Biol Rep* 3: 15 (8 pp).

Zimmer-Bensch G (2019): Emerging roles of long non-coding RNAs as drivers of brain evolution. *Cells* 8: 1399 (24 pp).

