

Implicación de la metilación de ácidos nucleicos en biología y evolución: desde los primeros homínidos hasta los humanos modernos – Revisión

Gabriel Dorado ¹, Fernando Luque ², Francisco José Esteban ³, Plácido Pascual ⁴, Inmaculada Jiménez ⁵, Francisco Javier S. Sánchez-Cañete ⁶, Patricia Raya ⁷, Jesús Sáiz ⁸, Adela Sánchez ⁸, Teresa E. Rosales ⁹, Víctor F. Vásquez ¹⁰, Pilar Hernández ¹¹

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), CE: <bb1dopeg@uco.es>; ² Laboratorio de Producción y Sanidad Animal de Córdoba, Ctra. Madrid-Cádiz km 395, 14071 Córdoba; ³ Servicio de Informática, Edificio Ramón y Cajal, Campus Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba; ⁴ Laboratorio Agroalimentario de Córdoba, Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, 14004 Córdoba; ⁵ IES Puertas del Campo, Avda. San Juan de Dios 1, 51001 Ceuta; ⁶ EE.PP. Sagrada Familia de Baena, Avda. Padre Villoslada 22, 14850 Baena (Córdoba); ⁷ Dep. Radiología y Medicina Física, Unidad de Física Médica, Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal s/n, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba; ⁸ Dep. Farmacología, Toxicología y Medicina Legal y Forense, Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal, s/n, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba; ⁹ Laboratorio de Arqueobiología, Avda. Juan Pablo II s/n, Universidad Nacional de Trujillo, 13011 Trujillo (Perú); ¹⁰ Centro de Investigaciones Arqueobiológicas y Paleoecológicas Andinas Arqueobios, C/. Martínez de Compañón 430-Bajo 100, Urbanización San Andrés, 13008 Trujillo (Perú); ¹¹ Instituto de Agricultura Sostenible (IAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Alameda del Obispo s/n, 14080 Córdoba.

Resumen

Los avances recientes en biología molecular, en general, y secuenciación de ácidos nucleicos, en particular, han posibilitado descubrimientos fascinantes. Así, ahora se sabe que las metilaciones de ADN y ARN modulan el desarrollo de órganos, incluido el cerebro. Eso implica tanto su estructura como su función, lo que permite una rápida adaptación a los entornos cambiantes. Se ha propuesto que tales cambios epigenéticos pueden permitir el aprendizaje y codificar recuerdos. Algunos de estos fenómenos surgieron antes que los homínidos, pero otros nos hicieron humanos. Sin embargo, la evolución de la corteza cerebral no solo mejoró el aprendizaje y la memoria, sino que también incrementó el riesgo de enfermedades como el cáncer y los trastornos neurodegenerativos en humanos. Afortunadamente, tecnologías como CRISPR tienen un potencial prometedor para editar estas modificaciones epigenéticas, para prevenir y curar tales enfermedades. La relevancia de la metilación de ácidos nucleicos también es particularmente importante en bioarqueología, ya que se pueden analizar tanto ADN antiguo (aDNA) como ARN antiguo (aRNA), revelando paleofisiologías desconocidas.

Palabras clave: Hominini, paleogenómica, paleoepigenómica, proteómica, metabolómica, expresión génica, biomarcadores, bioinformática.

Abstract

Recent developments in molecular biology, in general, and nucleic-acid sequencing, in particular, have allowed fascinating discoveries. DNA and RNA methylation modulate development of organs, including the brain. That involves both structure and function, allowing quick adaptation to changing environments. It has been proposed that such epigenetic changes may allow learning and encode memories. Some of these events arose before hominids, but others made us human. Yet, the cerebral cortex evolution not only enhanced learning and memory, but also increased the risk of diseases like cancer and neurodegenerative disorders in humans. Fortunately, technologies like CRISPR have promising potential to edit these epigenetic modifications, to prevent and cure such diseases. The relevance of nucleic-acid methylation is also particularly relevant in bioarchaeology, since both ancient DNA (aDNA) and RNA (aRNA) can be analyzed, revealing unknown paleophysiology.

Key words: Hominini, paleogenomics, paleoepigenomics, proteomics, metabolomics, gene expression, biomarkers, bioinformatics.

Introducción

El estudio de la evolución biológica es un tema fascinante, en general, y más cuando se enfoca en la evolución humana. Como hemos revisado, los desarrollos en biología molecular, en general, y secuenciación y amplificación de ácidos nucleicos, en particular, así como en metabolómica y proteómica, han permitido obtener nuevos conocimientos en dichas áreas, incluso para especies extintas (Dorado et al, 2007-2021b). Una pregunta clave sobre esto último es: ¿qué nos hizo humanos? Como hemos revisado, los desarrollos en la secuenciación de ácidos nucleicos (Dorado et al, 2021a) han revelado hechos interesantes y, a veces, sorprendentes, que incluyen: i) familia de genes derivados de homólogos de muesca 2 (*NOTCH2*; del inglés, “Notch Homolog 2”) en genes similares a N terminal de homólogos de muesca 2 (*NOTCH2NL*; del inglés, “Notch Homolog 2 N-terminal-Like”), denominados genes similares a N terminal de homólogos de muesca 2 (*NOTCH2NL*; del inglés, “Notch Homolog 2 N-terminal-Like”). Se generaron a partir de la duplicación parcial, reparación y conversión de *NOTCH2* (Dorado et al, 2018); y ii) ARN no codificante (Dorado et al, 2020). Ambos hechos estuvieron involucrados en la evolución cortical del cerebro humano desde los primeros homínidos hasta los humanos modernos.

Investigaciones posteriores también han encontrado que la metilación de ácidos nucleicos (modificación epigenética) también estuvo involucrada en el sorprendente hecho del desarrollo del cerebro que nos hizo humanos (Liu et al, 2021a). Primero se descubrió la participación de la metilación del ADN en la regulación de la expresión génica. Luego, también se encontró la relevancia de la metilación del ARN en tales procesos. Estos hechos se vuelven aún más relevantes cuando se considera que no solo el ADN antiguo (ADNa), sino también el ARN antiguo (ARNa) se pueden secuenciar con los nuevos avances tecnológicos (Dorado et al, 2021a).

Metilación del ADN

La metilación del ADN en las regiones promotoras suele reprimir la expresión génica. Curiosamente, los eventos de metilación y desmetilación del ADN tienen lugar durante el desarrollo humano, siendo diferentes durante la generación de gametos en machos y hembras (Fig. 1)

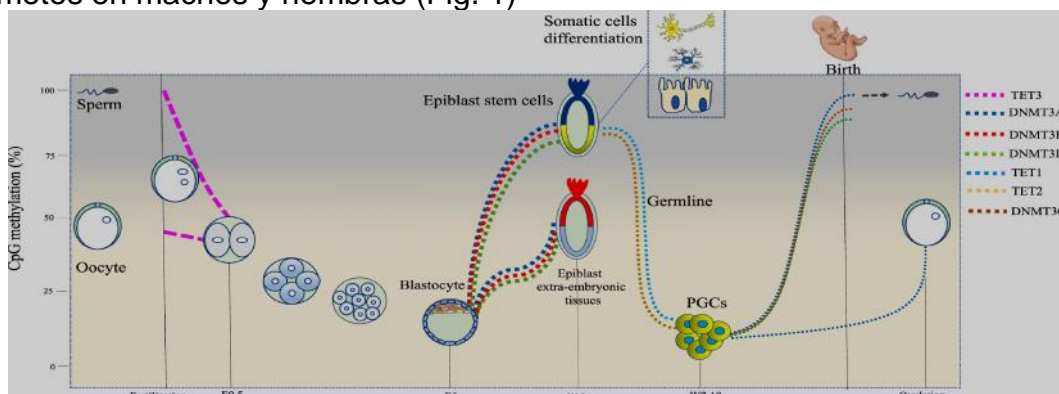


Figura 1. Eventos de metilación y desmetilación del ADN durante el desarrollo humano. Dichos cambios epigenéticos modulan la expresión génica celular, incluidas las neuronas. Téngase en cuenta la desmetilación significativa después de la fertilización, la metilación después del blastocito y nuevamente la desmetilación significativa en la línea germinal y la metilación durante la gametogénesis, con machos y hembras que exhiben diferentes perfiles. © Elsevier (Shirvani-Farsani et al, 2021).

(Shirvani-Farsani et al, 2021). Por otro lado, las neuronas son la base de los recuerdos. De hecho, la metilación del ADN contribuye a la regulación del desarrollo del cerebro, involucrando la estructura y función de dicho órgano, lo que permite adaptaciones rápidas a entornos cambiantes. Los cambios metabólicos, las diferencias en las propiedades celulares y sinápticas y, eventualmente, la expansión y reorganización de los circuitos neuronales se llevan a cabo en el Sistema Nervioso Central (SNC) (Fig. 2) (Sun et al, 2019; Clemens y Gabel, 2020; Pattabiraman et al, 2020; Poon et al, 2020a; Wheeler et al, 2020; Yin et al, 2020; Liu et al 2021a, b; Niiranen et al, 2022).

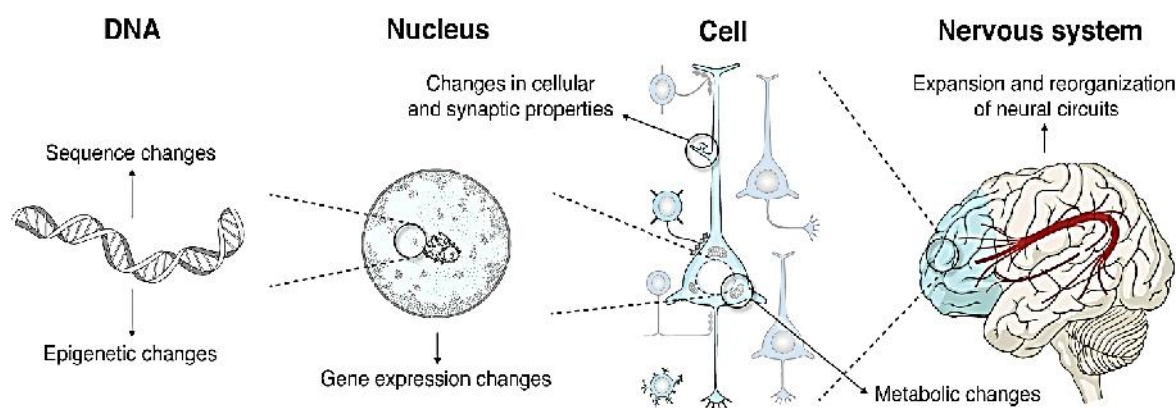


Figura 2. Secuencia de ADN y cambios epigenéticos en el sistema nervioso central humano. Las modificaciones epigenéticas y de secuencia modulan la expresión génica. Ello genera cambios en las células y el SNC. © Elsevier (Pattabiraman et al, 2020).

Por lo tanto, los cerebros humanos muestran ADN hipometilado en contextos CG. De esa manera, regulan al alza los genes secuencia abajo. Por el contrario, la hipermetilación del ADN en contextos sin CG o CH (H = A, C y T) ha aumentado en la evolución del cerebro humano, reprimiendo genes. Se ha propuesto que estos cambios epigenéticos pueden codificar recuerdos. Algunos de estos eventos surgieron antes de la segregación de los homínidos y monos catarrinos, pero otros surgieron después de la separación de los chimpancés. Desafortunadamente, tal evolución de la corteza humana no solo mejoró el aprendizaje y la memoria, sino que también aumentó el riesgo de neurodegeneración y enfermedades neuropsiquiátricas en humanos. Incluyen las enfermedades de Alzheimer y Parkinson, esquizofrenia, epilepsia y psicosis. Asimismo, accidente cerebrovascular, ataxia, adicción (incluido el trastorno por consumo de alcohol), estrés postraumático y trastornos socioemocionales, depresión, riesgo de suicidio y envejecimiento (Hernando-Herraez et al, 2013, 2015; Banerjee et al, 2018, 2019; Pattabiraman et al, 2020; Poon et al, 2020b; Wheeler et al, 2020; Coppede, 2021a,b; 2022; Jeong et al, 2021; Liu et al 2021a,b; Starnawska y Demontis, 2021; Wei et al, 2021; Wigley et al, 2021; Bernstein, 2022; Dragic et al, 2022; Guemri et al, 2022; Kaplan et al, 2022; Kouter et al, 2022; Lei y Wang, 2022; Lionaki et al, 2022; Panariello et al, 2022; Zhan et al, 2022c).

La resonancia magnética nuclear (RMN) se ha utilizado para estudiar la metilación del ADN en el cerebro (Lam et al, 2022). Además, la bioinformática, la Inteligencia Artificial [IA; del inglés, "Artificial Intelligence" (AI)], en general, y el Aprendizaje de Máquinas [AM; del inglés, "Machine Learning" (ML)], en

particular, también se han utilizado para identificar firmas de metilación en cerebros con enfermedad de Alzheimer (Li et al, 2022; Chen et al, 2022a, b). Además, los perfiles de metilación del ADN se han considerado biomarcadores de trastornos neuropsiquiátricos (Shirvani-Farsani et al, 2021). También, la metilación del ADN se ha utilizado para inferir fenotipos antiguos, como caras de neandertal y denisovano, como hemos revisado nosotros y otros (Mathov et al, 2020; Dorado et al, 2021b; Niiranen et al, 2022).

Metilación del ARN

El ARN también puede metilarse después de la transcripción (modificación epitranscriptómica) de ARN mensajero (ARNm), ARN ribosómico (ARNr), ARN de transferencia (ARNt) y ARN no codificante (ARNnc). Como hemos revisado anteriormente, estos últimos a veces se traducen en micropéptidos (Dorado et al, 2020). Como era de esperar, la metilación del ARN está involucrada en muchos estados fisiológicos y patológicos. Así, la metilación de la posición N6 de la adenosina genera N6-metiladenosina (m⁶A o m6A), que desempeña un papel clave en el desarrollo del cerebro. Dicho cambio epigenético está controlado por tres tipos de proteasas (escritoras, lectoras y borradoras), que modulan la proliferación, diferenciación y maduración de los precursores neuronales, incluidas la gliogénesis y neurogénesis, lo que permite el desarrollo del cerebro. Esto involucra dendritogénesis y crecimiento axonal (axonogénesis), sinaptogénesis y transmisión sináptica, reloj circadiano, comportamiento, aprendizaje y memoria (Figs. 3 y 4). En el lado negativo, la metilación m6A del ARNm también está involucrada en la proliferación de gliomas malignos (siendo el tumor cerebral más letal) y la respuesta inflamatoria en la microglía (Li et al, 2021; Pan et al, 2021; Sokpor et al, 2021; Yen y Chen, 2021; Sun et al, 2022; Wei et al, 2022; Widagdo et al, 2022; Zhang et al, 2022a, b).

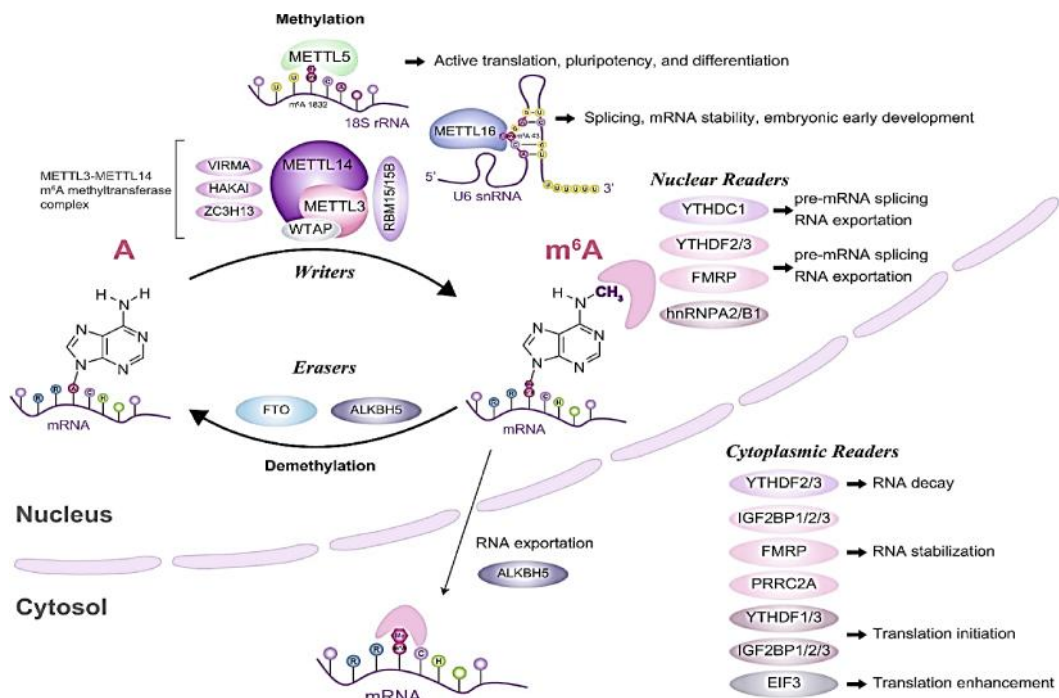


Figura 3. Escritores, lectores y borradores de ARNm m6A. El ARNm es metilado por escritores, leído por lectores y eliminado por borradores, modulando la fisiología celular. © BioMed Central (BMC; Yen and Chen, 2021).

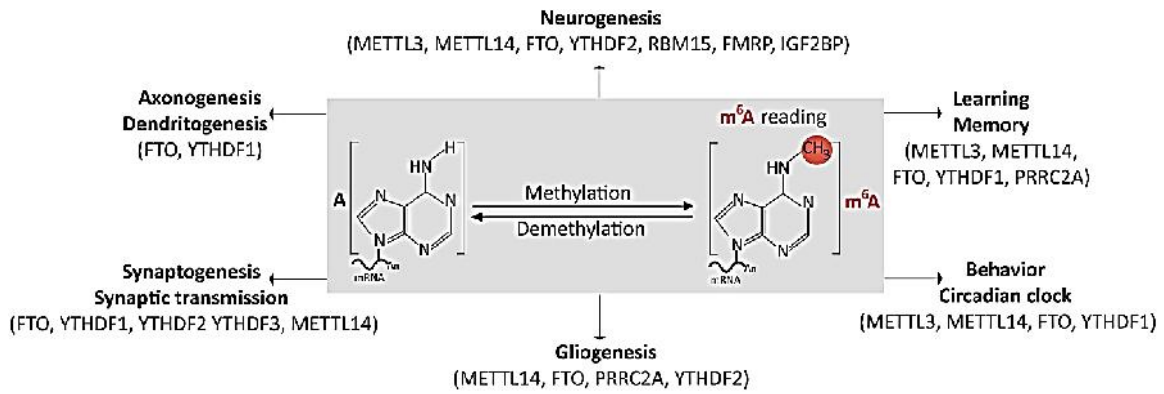


Figura 4. Implicación del ARNm m6A en la fisiología cerebral. Tales modificaciones epigenéticas modulan la proliferación y la diferenciación, incluidas la sinaptogénesis y la transmisión sináptica, que están involucradas en el comportamiento, aprendizaje y memoria, entre otras funciones fisiológicas. © Frontiers (Sokpor et al, 2021).

Se ha encontrado que la metilación del ARN está involucrada en el aprendizaje y la consolidación de la memoria a largo plazo, a través de la regulación positiva de: i) metiltransferasa 3 (*METTL3*); ii) miembros de la familia de dominio 1 (YTHDF1) con homología de doble híbrido en levadura 521-B (*YT521-B*) (YTH) dominio-miembro de familia 1 (*YTHDF1*); y iii) *FTO* {nombre del gen derivado de “FaTsO”, debido a su gran tamaño, deletado por la mutación de ratón denominada “dedos de las patas fusionados” [del inglés, “Fused Toes” (FT)]} (Fig. 5) (Zhou et al, 2020; Widagdo et al, 2022).

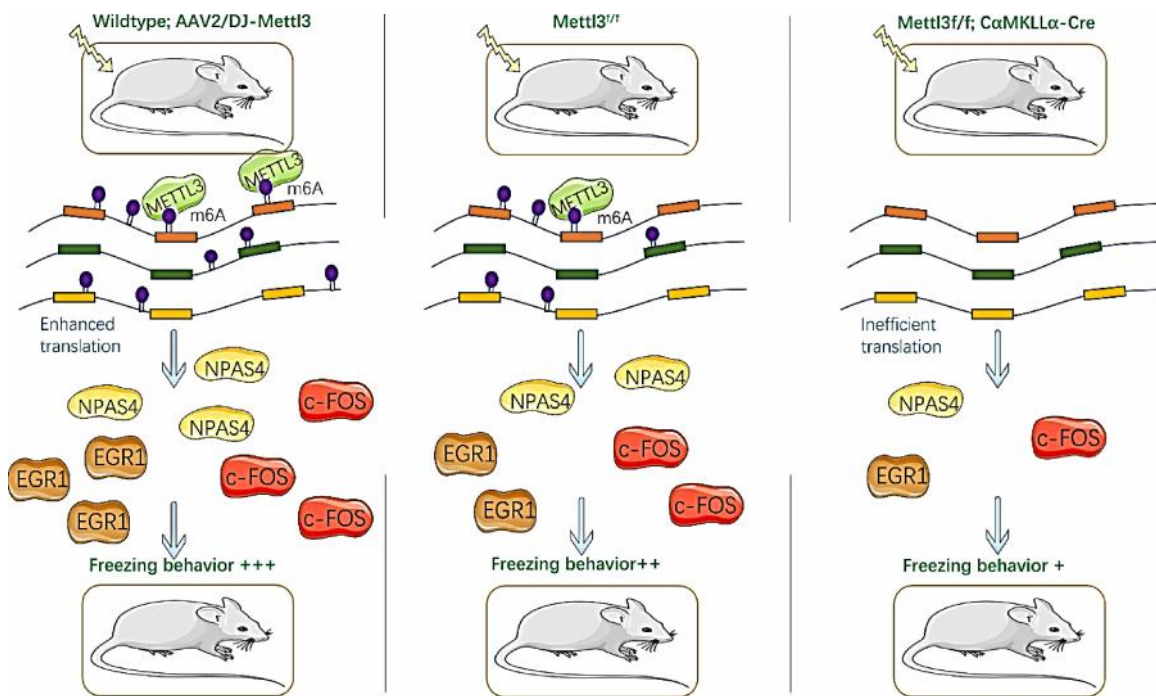


Figura 5. La memoria a largo plazo está modulada por *METTL3*. Se muestran ratones con sobreexpresión (izquierda), expresión normal (centro) y reducida (de inglés, “knockdown”) de *METTL3*. El primero exhibe una mayor traducción de *EGR1*, *npas4* y *c-FOS*. Eso mejoró la capacidad de memoria a largo plazo de dichos ratones, en relación con los de expresión normal y –principalmente– en relación con los que tenían expresión reducida. © Elsevier (Zhou et al, 2020).

Curiosamente, mientras que la regulación génica generalmente se lleva a cabo de una manera binaria de inducción/represión, la metilación de m6A la afina. Eso se logra a través de diferentes procesos, incluidos el ajustamiento, la exportación, la traducción, la estabilidad y la degradación del ARNm. Curiosamente, la metilación del ARNm m6A es más alta en el cerebro que en otros órganos humanos. Como se indicó antes, modula la neurogénesis, incluida la axonogénesis y gliogénesis, durante el desarrollo del cerebro. Posteriormente, se involucra en la salud del cerebro a través de la plasticidad sináptica, ritmo circadiano, respuesta al estrés y función cognitiva. Por otro lado, el desequilibrio y la desregulación de la metilación de m6A pueden conducir a diferentes patologías, como neurodegeneración crónica, lesión cerebral aguda, trastornos neuropsiquiátricos y cáncer cerebral (Fig. 6) (Chokkalla et al, 2020, 2022; Park et al, 2020; Sokpor et al, 2021; Yen y Chen, 2021; Sun et al, 2022; Wei et al, 2022; Zhang et al, 2022a, b).

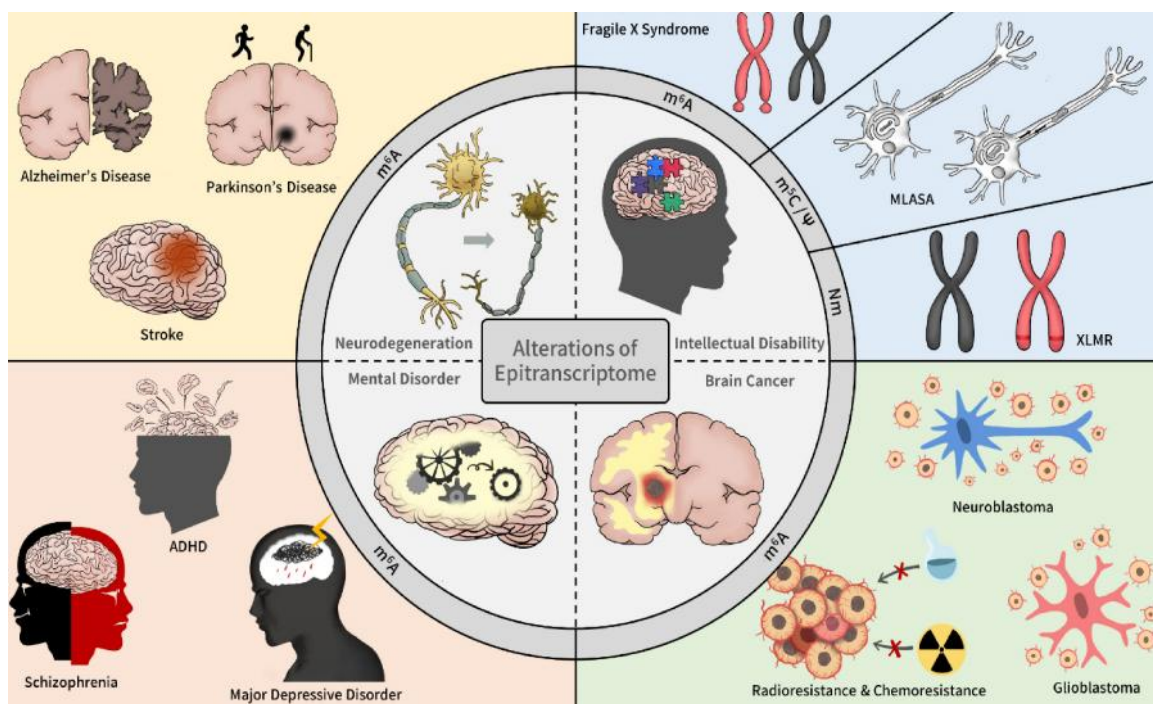


Figura 6. Alteraciones epitranscriptómicas del ARN y trastornos cerebrales. Dichas enfermedades pueden incluir neurodegeneración, discapacidad intelectual, trastorno mental y cáncer cerebral. Ver también la modulación de la fisiología cerebral por ARNm m6A en https://img.inotgo.com/imagesLocal/202208/10/202208101553342913_6.jpg o https://pic4.zhimg.com/80/v2-582705027d88c88525ca79e182d37eef_1440w.jpg. Tal modificación epitranscriptómica está involucrada en el desarrollo del cerebro, su salud y enfermedad (Chokkalla et al, 2020).

Conclusiones finales y perspectivas de futuro

Los avances en la secuenciación de ácidos nucleicos han permitido descubrir nuevos procesos biológicos. Entre ellos se encuentran la metilación de ácidos nucleicos (ADN y ARN). La identificación de sitios de metilación individuales puede ser costosa y laboriosa. Por lo tanto, se han propuesto enfoques bioinformáticos (Li et al, 2022; Chen et al, 2022a, b). Tales modificaciones epigenéticas están involucradas en la regulación de la expresión génica, incluido el desarrollo del cerebro. En resumen, la duplicación parcial, la reparación y la

conversión de los genes *NOTCH2* en *NOTCH2NL*, así como el ARN no codificante y la metilación de ácidos nucleicos estuvieron involucrados en la evolución cortical del cerebro humano desde los primeros homínidos hasta los humanos modernos. Si bien existen limitaciones (Non, 2021; Smith y Non, 2022), estos estudios tienen una relevancia aún mayor, si se considera que las nuevas tecnologías de secuenciación permiten secuenciar ADN y ARN, como nosotros y otros hemos revisado (Dorado et al, 2007, 2009, 2011, 2016, 2021a; Lindqvist y Rajora, 2019). Por último, pero no menos importante, las repeticiones palindrómicas cortas agrupadas regularmente interespaciadas (CRISPR; del inglés, “Clustered Regularly-Interspaced Short-Palindromic Repeats”), que también hemos revisado (Dorado et al, 2017), tienen un potencial prometedor para editar m⁶A y curar enfermedades neurológicas como el Alzheimer y el Parkinson, aumentando la incorporación, estabilidad y traducción, o activando el decaimiento y degradación de moléculas de ARNm específicas (Fig. 7) (Sokpor et al, 2021).

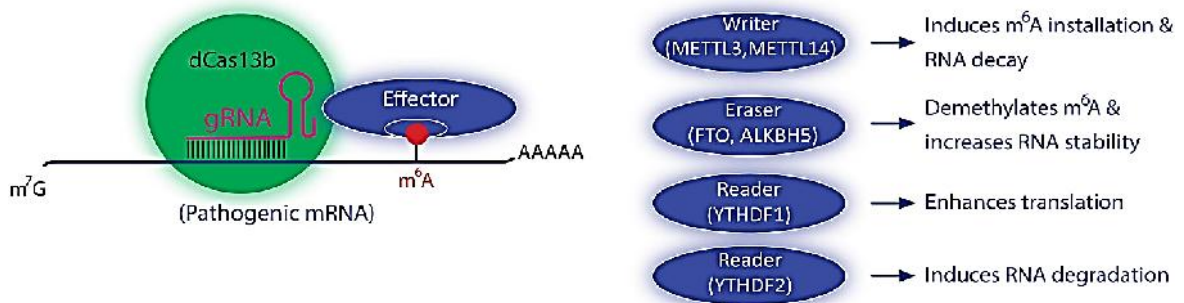


Figure 7. Edición de ARNm m⁶A por CRISPR. El ARNm puede modificarse, ya sea aumentando o disminuyendo su incorporación, estabilidad y actividad. © Frontiers (Sokpor et al, 2021).

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

- Banerjee N, Polushina T, Bettella F, Giddaluru S, Steen VM, Andreassen OA, Le Hellard S (2018): Recently evolved human-specific methylated regions are enriched in schizophrenia signals. *BMC Ecology and Evolution* 18: 63 (11 pp).
- Banerjee N, Polushina T, Bettella F, Steen VM, Andreassen OA, Le Hellard S (2019): Analysis of differentially methylated regions in great apes and extinct hominids provides support for the evolutionary hypothesis of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 206: 209-216.

- Bernstein C (2022): DNA methylation and establishing memory. *Epigenetics Insights* 15: 25168657211072499 (15 pp).
- Chen F, Wang N, He X (2022a): Identification of differential genes of DNA methylation associated with Alzheimer's disease based on integrated bioinformatics and its diagnostic significance. *Frontiers in Aging Neuroscience* 14: 884367 (13 pp).
- Chen L, Li Z, Zhang S, Zhang YH, Huang T, Cai YD (2022b): Predicting RNA 5-methylcytosine sites by using essential sequence features and distributions. *BioMed Research International* 2022: 4035462 (11 pp).
- Chokkalla AK, Mehta SL, Vemuganti R (2020): Epitranscriptomic regulation by m6A RNA methylation in brain development and diseases. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 40: 2331-2349.
- Chokkalla AK, Mehta SL, Vemuganti R (2022): Epitranscriptomic modifications modulate normal and pathological functions in CNS. *Translational Stroke Research* 13: 1-11.
- Clemens AW, Gabel HW (2020): Emerging insights into the distinctive neuronal methylome. *Trends in Genetics* 36: 816-832.
- Coppede F (2021a): Epigenetic regulation in Alzheimer's disease: is it a potential therapeutic target? *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 25: 283-298.
- Coppede F (2021b): One-carbon epigenetics and redox biology of neurodegeneration. *Free Radical Biology and Medicine* 170: 19-33.
- Coppede F (2022): Targeting the epigenome to treat neurodegenerative diseases or delay their onset: a perspective. *Neural Regeneration Research* 17: 1745-1747.
- Dorado G, Gálvez S, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2021a): Analyzing modern biomolecules: the revolution of nucleic-acid sequencing – Review. *Biomolecules* (section Molecular Genetics) 11: 1111 (18 pp).
- 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, Esteban FJ, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Raya P, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2021b): Molecular biology to infer phenotypes of forensic and ancient remains in bioarchaeology – Review. *Archaeobios* 15: 49-64.
- 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, Luque F, Pascual P, Jiménez I, Sánchez-Cañete FJS, Raya P, Sáiz J, Sánchez A, Rosales TE, Vásquez VF, Hernández P (2020): Implications of non-coding RNA on biology and evolution: from first hominids to modern humans - Review. *Archaeobios* 14: 107-118.
- 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 - A 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.
- Dragic D, Chang SL, Ennour-Idrissi K, Durocher F, Severi G, Diorio C (2022): Association between alcohol consumption and DNA methylation in blood: a systematic review of observational studies. *Epigenomics* 14: 793-810.
- Guemri J, Pierre-Jean M, Brohard S, Oussada N, Horgues C, Bonnet E, Mauger F, Deleuze JF (2022): Methylated ccfDNA from plasma biomarkers of Alzheimer's disease using targeted bisulfite sequencing. *Epigenomics* 14: 451-468.
- Hernando-Herraez I, Garcia-Perez R, Sharp AJ, Marques-Bonet T (2015): DNA Methylation: insights into human evolution. *PLoS Genetics* 11: e1005661 (12 pp).
- Hernando-Herraez I, Prado-Martinez J, Garg P, Fernandez-Callejo M, Heyn H, Hvilsom C, Navarro A, Esteller M, Sharp AJ, Marques-Bonet T (2013): Dynamics of DNA methylation in recent human and great ape evolution. *PLoS Genetics* 9: e1003763 (12 pp).
- Jeong H, Mendizabal I, Berto S, Chatterjee P, Layman T, Usui N, Toriumi K, Douglas C, Singh D, Huh I, Preuss TM, Konopka G, Yi SV (2021): Evolution of DNA methylation in the human brain. *Nature Communications* 12: 2021 (12 pp).
- Kaplan G, Xu H, Abreu K, Feng J (2022): DNA epigenetics in addiction susceptibility. *Frontiers in Genetics* 13: 806685 (18 pp).
- Kouter K, Zupanc T, Videtic Paska A (2022): Targeted sequencing approach: comprehensive analysis of DNA methylation and gene expression across blood and brain regions in suicide victims. *World Journal of Biological Psychiatry* 9: 1-12.
- Lam F, Chu J, Choi JS, Cao C, Hitchens TK, Silverman SK, Liang ZP, Dilger RN, Robinson GE, Li KC (2022): Epigenetic MRI: noninvasive imaging of DNA methylation in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)* 119: e2119891119 (9 pp).
- Lei C, Wang Q (2022): The progression of N6-methyladenosine study and its role in neuropsychiatric disorders. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 5922 (18 pp).
- Li Q, Wen S, Ye W, Zhao S, Liu X (2021): The potential roles of m6A modification in regulating the inflammatory response in microglia. *Journal of Neuroinflammation* 18: 149 (16 pp).
- Li Z, Guo W, Zeng T, Yin J, Feng K, Huang T, Cai YD (2022): Detecting brain structure-specific methylation signatures and rules for Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience* 16: 895181 (11 pp).

- Lindqvist C, Rajora OP (2019): *Paleogenomics - Genome-Scale Analysis of Ancient DNA*. Springer (New York, NY, USA).
- Lionaki E, Ploumi C, Tavernarakis N (2022): One-carbon metabolism: pulling the strings behind aging and neurodegeneration. *Cells* 11: 214 (26 pp).
- Liu J, Mosti F, Silver DL (2021a): Human brain evolution: emerging roles for regulatory DNA and RNA. *Current Opinion in Neurobiology* 71: 170-177.
- Liu W, Wu G, Xiong F, Chen Y (2021b): Advances in the DNA methylation hydroxylase TET1. *Biomarker Research* 9: 76 (12 pp).
- Mathov Y, Batyrev D, Meshorer E, Carmel L (2020): Harnessing epigenetics to study human evolution. *Current Opinion in Genetics & Development* 62: 23-29.
- Niiranen L, Leciej D, Edlund H, Bernhardsson C, Fraser M, Quinto FS, Herzig KH, Jakobsson M, Walkowiak J, Thalmann O (2022): Epigenomic modifications in modern and ancient genomes. *Genes* 13: 178 (16 pp).
- Non AL (2021): Social epigenomics: are we at an impasse? *Epigenomics* 13: 1747-1759.
- Pan T, Wu F, Li L, Wu S, Zhou F, Zhang P, Sun C, Xia L (2021): The role m6A RNA methylation is CNS development and glioma pathogenesis. *Molecular Brain* 14: 119 (9 pp).
- Panariello F, Fanelli G, Fabbri C, Atti AR, De Ronchi D, Serretti A (2022): Epigenetic basis of psychiatric disorders: a narrative review. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* 21: 302-315.
- Park CW, Lee SM, Yoon KJ (2020): Epitranscriptomic regulation of transcriptome plasticity in development and diseases of the brain. *BMB Reports* 53: 551-564.
- Pattabiraman K, Muchnik SK, Sestan N (2020): The evolution of the human brain and disease susceptibility. *Current Opinion in Genetics & Development* 65: 91-97.
- Poon CH, Chan YS, Fung ML, Lim LW (2020a): Memory and neuromodulation: a perspective of DNA methylation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 111: 57-68.
- Poon CH, Tse LSR, Lim LW (2020b): DNA methylation in the pathology of Alzheimer's disease: from gene to cognition. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1475: 15-33.

- Shirvani-Farsani Z, Maloum Z, Bagheri-Hosseiniabadi Z, Vilor-Tejedor N, Sadeghi I (2021): DNA methylation signature as a biomarker of major neuropsychiatric disorders. *Journal of Psychiatric Research* 141: 34-49.
- Smith RW, Non AL (2022): Assessing the achievements and uncertain future of paleoepigenomics. *Epigenomics* 14: 167-173.
- Sokpor G, Xie Y, Nguyen HP, Tuoc T (2021): Emerging role of m6A methylome in brain development: implications for neurological disorders and potential treatment. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9: 656849 (24 pp).
- Starnawska A, Demontis D (2021): Role of DNA methylation in mediating genetic risk of psychiatric disorders. *Frontiers in Psychiatry* 12: 596821 (10 pp).
- Sun J, Cheng B, Su Y, Li M, Ma S, Zhang Y, Zhang A, Cai S, Bao Q, Wang S, Zhu P (2022): The potential role of m6A RNA methylation in the aging process and aging-associated diseases. *Frontiers in Genetics* 13: 869950 (18 pp).
- Sun Z, Xu X, He J, Murray A, Sun MA, Wei X, Wang X, McCoig E, Xie E, Jiang X, Li L, Zhu J, Chen J, Morozov A, Pickrell AM, Theus MH, Xie H (2019): EGR1 recruits TET1 to shape the brain methylome during development and upon neuronal activity. *Nature Communications* 10: 3892 (12 pp).
- Wei B, Zeng M, Yang J, Li S, Zhang J, Ding N, Jiang Z (2022): N6-methyladenosine RNA modification: a potential regulator of stem cell proliferation and differentiation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 10: 835205 (13 pp).
- Wei X, Du P, Zhao Z (2021): Impacts of DNA methylation on Tau protein related genes in the brains of patients with Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters* 763: 136196 (5 pp).
- Wheater ENW, Stoye DQ, Cox SR, Wardlaw JM, Drake AJ, Bastin ME, Boardman JP (2020): DNA methylation and brain structure and function across the life course: a systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 113: 133-156.
- Widagdo J, Wong JJ, Anggono V (2022): The m6A-epitranscriptome in brain plasticity, learning and memory. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 125: 110-121.
- Wigley ILCM, Mascheroni E, Peruzzo D, Giorda R, Bonichini S, Montirosso R (2021): Neuroimaging and DNA Methylation: an innovative approach to study the effects of early life stress on developmental plasticity. *Frontiers in Psychology* 12: 672786 (13 pp).
- Yen YP, Chen JA (2021): The m6A epitranscriptome on neural development and degeneration. *Journal of Biomedical Science* 28: 40 (11 pp).

- Yin L, Banerjee S, Fan J, He J, Lu X, Xie H (2020): Epigenetic regulation of neuronal cell specification inferred with single cell “Omics” data. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 18: 942-952.
- Zhan W, Li Y, Yuan J, Zhi N, Huang Y, Liu Y, Zhang M, Wu S, Zhao X (2022): New insights into TETs in psychiatric disorders. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 4909 (12 pp).
- Zhang N, Ding C, Zuo Y, Peng Y, Zuo L (2022a): N6-methyladenosine and neurological diseases. *Molecular Neurobiology* 59: 1925-1937.
- Zhang R, Zhang Y, Guo F, Li S, Cui H (2022b): RNA N6-methyladenosine modifications and its roles in Alzheimer's disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 16: 820378 (14 pp).
- Zhou Y, Kong Y, Fan W, Tao T, Xiao Q, Li N, Zhu X (2020): Principles of RNA methylation and their implications for biology and medicine. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 131: 110731 (22 pp).

