

EPIGENETICATRADUCCIONES
EPIGENÉTICA**EPIGENÉTICA****EPIGENÉTICA**

¿Qué significa "epigenética"?

Introducción

El interés en la epigenética, así como el uso de este término, ha aumentado significativamente desde que este campo de la biología fuera concebido por Conrad Waddington a principios de 1940. En 2006 se publicaron más de 2.500 artículos relacionados con la epigenética (Bird, 2007), y en 2010 más de 13.000 (Haig, 2012). En 2013, este número se elevó a más de 17.000; la sorprendente cantidad de 45 publicaciones nuevas cada día. Hoy día, los conceptos epigenéticos se extendieron a campos que no abordan de manera rutinaria la genética, tales como la ecología (Bossdorf *et al.*, 2008; Zucchi *et al.*, 2013; Burris y Baccarelli, 2014), fisiología (Ho y Burggren, 2010) y la psicología (Ngun y Vilain, 2014; Zhou *et al.*, 2014). A pesar de su aparente popularidad, lo desafortunado es que el aumento del uso de los términos relacionados con la epigenética es probable que se deba más a las inconsistencias en su definición que a un interés legítimo entre los científicos o de un cambio de paradigma en las reglas de la herencia. El término "epigenética" adquirió múltiples significados que describen diferentes fenómenos. La falta de una definición clara ha llevado a la confusión y el mal uso del término, lo que también dificulta sintetizar y reconciliar las investigaciones en este campo. Hay muchas razones por las que la etimología de la epigenética es tan ambigua, muchas de las cuales están relacionadas con el ambiente científico en el que se concibió el término; otras son enteramente filosóficas. En este ensayo, abordaremos estos problemas proporcionando una breve historia de la epigenética (el término y el campo científico) y discutiremos las diversas definiciones, así como las diferencias importantes entre ellas. También vamos a hacer frente a los retos que existen y seguirán existiendo, si estas ambigüedades no se abordan; y ofreceremos potenciales soluciones para hacer frente a estos desafíos.

Historia del término "epigenética"

Para entender el significado del término "epigenética", hay que entender el contexto en el que se produjo. Conrad Waddington, quien definió por primera vez esta área de estudio en 1942, trabajó como embriólogo y biólogo del desarrollo. En 1947, fundó y dirigió el primer departamento de genética en el Instituto de Edimburgo y más tarde, en 1965, fundó el Grupo de

Traducción y adaptación
Pablo A. Otero

Este artículo es una traducción y adaptación del artículo: What Do You Mean, "Epigenetic"? Authors: Carrie Deans & Keith A. Maggert. Publicado en GENETICS April 1, 2015 vol. 199 no. 4. <http://www.genetics.org/content/199/4/887>

Investigación Epigenética (Van Speybroeck, 2002). Waddington tuvo un fuerte aprecio por la genética y una dedicación importante para unificar los principios genéticos con otros campos de la biología, como la citología, la embriología y la biología evolutiva. Sin embargo, él estaba particularmente interesado en embriología y la genética del desarrollo, específicamente en los mecanismos que controlan la diferenciación celular. En ese momento, había dos puntos de vista que prevalecían sobre el desarrollo, ambos derivaban del siglo XVII: la preformación, que afirmaba que todas las características de un adulto ya estaban presentes en el embrión, que solo necesitaba crecer o desarrollarse, y la epigénesis, que postulaba que los nuevos tejidos eran producidos a partir de sucesivas interacciones entre los constituyentes del embrión (Waddington, 1956; Van Speybroeck, 2002). Waddington creía que la preformación y epigénesis podrían ser complementarias; que la preformación representaba la naturaleza estática del gen, mientras que la epigénesis representaba la naturaleza dinámica de la expresión génica (Waddington, 1956; Van Speybroeck, 2002). Es a través de la combinación de estos conceptos que él acuñó el término "epigenética", al cual se refería como "la rama de la biología que estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos, que dan lugar al fenotipo" (Waddington, 1942a; Dupont *et al.*, 2009).

Es importante destacar que la genética era, en ese momento, un área de estudio joven, centrada en el trabajo de Mendel sobre la herencia de los caracteres, y que aceptaba la idea de que el gen era la unidad de herencia (Johannsen, 1909). Pero por ese entonces poco se sabía sobre la naturaleza bioquímica del gen o su funcionamiento. No fue hasta que Beadle y Tatum (1941) publicaron su trabajo afirmando el concepto de "un gen-una enzima", que se tuvo una discreta comprensión de la función del gen, además de los trabajos posteriores que definieron su estructura. Esta atmósfera centrada en el "gen", unida a los esfuerzos por entender la regulación y expresión de los genes, tuvo una fuerte influencia en el desarrollo de la epigenética, tanto como concepto, como campo de estudio (Jablonka y Lamb, 2002).

En ese momento, muchos, incluyendo Waddington, estaban interesados en el proceso de control de los genes y su expresión. Embriólogos experimentales, como Wilhelm Roux (1888), Hans Spemann (1967), Viktor Hamburger (1960), y el genetista evolutivo Ernst Hadorn (1955) estudiaron las mutaciones induciendo cambios en el desarrollo a través de la experimentación con productos químicos o escisión. Waddington, por el contrario, estaba más interesado en los procesos celulares que producían esos cambios, en lugar de los estímulos que los creaban. Una de las contribuciones más importantes de Waddington fue reconocer y hacer énfasis en la relación flexible del genotipo y el fenotipo (Waddington, 1942a, b, 1957); esta fue una idea que interesó a muchos de sus contemporáneos, como Nanney

(1958a), Huxley (1956), Ephrussi (1953, 1958), and Lederberg (1958) (véase más adelante). Hoy en día, las opiniones de Waddington sobre la epigenética están más estrechamente asociadas con la plasticidad fenotípica, que es la capacidad de un gen de producir múltiples fenotipos. Pero él también acuñó el término "canalización" para referirse a la estabilidad inherente de ciertos fenotipos (en particular los rasgos del desarrollo) a través de diferentes genotipos y ambientes (Waddington, 1942b; Siegal y Bergman, 2002). Juntos, sus conceptos de plasticidad y canalización sugieren una separación entre el genotipo y fenotipo, lo cual implica que deben existir procesos de regulación entre los dos. Esta realización fue fundamental para el concepto de la epigenética de Waddington.

En 1958, 16 años después que Waddington acuñó el término "epigenética", David Nanney publicó un artículo en el que utilizaba el mismo para distinguir entre diferentes tipos de sistemas celulares de control. Propuso que los componentes genéticos eran responsables de mantener y perpetuar una biblioteca de genes, expresados y no expresados, a través de un mecanismo de plantillas de replicación. A continuación, consideraba los componentes epigenéticos como mecanismos auxiliares que controlaban la expresión de genes específicos (Nanney, 1958a; Haig, 2004, 2012). Pero más importante aún, además de examinar la variabilidad en los patrones de expresión, Nanney, (1958a) hizo hincapié en el hecho de que los estados de expresión podrían persistir a través de la división celular. Aunque algunos han afirmado que la definición de Nanney fue desarrollada de forma independientemente de la de Waddington (que inicialmente utilizó el término paragenético) (Haig, 2004), existe una superposición considerable en los escritos contemporáneos de ellos, por ejemplo los que tratan sobre las relaciones genotipo-fenotipo (Nanney *et al.*, 1955, 1958a, b; Waddington, 1939, 1942a, b), la expresión génica (Nanney *et al.*, 1955, 1958a, b; Waddington, 1939, 1942a, b), y las funciones respectivas del núcleo y el citoplasma en la regulación génica (Nanney 1953, 1957, 1958a; Waddington 1939, 1956). Está claro, sin embargo, que contemplar la estabilidad de los estados de expresión celular por parte de Nanney fue una adición importante a las ideas de Waddington y que tuvieron un impacto significativo sobre la dirección futura de la epigenética. Para un tratamiento más detallado de esta historia consulte a Haig (2004, 2012) y Holliday (1994).

Las definiciones de Epigenética

Fue en gran parte debido a un interés común en el desarrollo y la diferenciación celular que Waddington, Nanney, y otros llegaron a utilizar el término epigenética. Sin embargo, el foco de atención variaba entre ellos, Waddington estaba más preocupado por la regulación de los genes y las interacciones genotipo-fenotipo, mientras

que Nanney y Lederberg lo estaban en la estabilidad de los estados de expresión y herencia celular. Según Haig (2004), el interés en estos diferentes aspectos de la epigenética condujo a una división dentro de esta área de investigación, que está directamente vinculada a la crisis de identidad en la definición del término que existe hoy en día.

Durante las décadas de 1980 y 1990, la definición de la epigenética se apartó de los procesos de desarrollo y se volvió más generalizada. Por ejemplo, una definición de 1982 describe la epigenética como "perteneciente a la interacción de factores genéticos y los procesos de desarrollo a través del cual el genotipo se expresa en el fenotipo" (Lincoln *et al.*, 1982). En esta definición incluye el término desarrollo, pero su significado parece estar más relacionado con el desarrollo del fenotipo que a un significado ontológico. Aunque sólo difiere ligeramente de la definición original de Waddington, esta y otras definiciones ampliaron el significado de la epigenética de manera importante. Esto hizo que el término fuera más conocido y se aplicara en otros campos, haciendo hincapié en la importancia de los factores genéticos y no genéticos en el control de la expresión génica, mientras que restaba importancia (aunque no ignoraba) la conexión con el desarrollo (Medawar y Medawar, 1983; Saló de, 1992; Jablonka y Lamb, 2002).

Al mismo tiempo, las investigaciones que se realizaron en los años 1970 y 1980 sobre la relación entre la metilación del ADN, la diferenciación celular y la expresión génica (Holliday y Pugh, 1975; Riggs, 1975; Jones y Taylor, 1980; Bird y col, 1985) mostraron una asociación más estrecha con la epigenética. El trabajo de Robin Holliday y otros sobre la memoria celular y la metilación del ADN, en particular la constatación de que la metilación del ADN afectaba la expresión génica y que estos efectos se mantenían luego de la mitosis, se acercaban más a la definición de Nanney (1958a, b) y la estabilidad de los estados de expresión. Esto llevó a Holliday a redefinir la epigenética de una manera más específica y centrada en la herencia de los estados de expresión (mientras que Nanney discutía la herencia epigenética, su definición no incluía un componente específico sobre la heredabilidad). Holliday (1994) ofreció dos definiciones, ambas insuficientes cuando se toman por separado, pero juntas cubren todos los procesos epigenéticos actualmente reconocidos. La primera definición plantea que la epigenética es "el estudio de los cambios en la expresión génica, que se producen en los organismos con células diferenciadas, y su herencia luego de la mitosis". La segunda dice que epigenética es "herencia nuclear que no está basada en diferencias en la secuencia de ADN". Wu y Morris (2001) simplificaron la definición de Holliday a: "el estudio de los cambios en la función de genes que son mitótica y/o meióticamente heredables y que no impliquen cambio en la secuencia de ADN".

La adición de "heredabilidad" hecha por Holliday en la definición original de Waddington, fue un cambio significativo. Si bien la definición de Waddington no se opone a la herencia de los estados de expresión (de hecho Waddington (1942a) discutió brevemente la heredabilidad en su trabajo "El epigenotipo"), este aspecto no era una parte fundamental de su concepto de la epigenética. A pesar de la discusión más a fondo de los estados de expresión heredables por Nanney y otros, esta fue la primera definición en hacer de la heredabilidad una parte necesaria de la epigenética.

Las implicancias de la redefinición de Holliday fueron significativas. La epigenética se convirtió en un área que agrupaba los fenómenos desconcertantes que no encajaban en otros campos de la genética y, en muchos aspectos, la incapacidad para explicar estos fenómenos por las explicaciones genéticas simples se convirtió en un elemento definitorio de la epigenética. Con anterioridad a la comprensión de los mecanismos de regulación basados en ARN, y aún en las primeras etapas de la comprensión de la metilación del ADN y modificaciones de las histonas, el desacoplamiento de genotipo y fenotipo ejemplificado por la epigenética proporciona un refugio atractivo ya que ofrecía un lenguaje metafórico para describir la falta de conexión entre un gen y sus propiedades fenotípicas. Esto incluía ocasiones en las que la expresión de un gen variaba dependiendo de su ubicación (como el efecto de posición en la variegación en *Drosophila* o levadura), la impronta génica (imprinting), u otras circunstancias (por ejemplo, el establecimiento de centrómeros, la reparación de los telómeros). La emoción de estar en presencia de una "nueva" genética inició, en poco tiempo, una ola de interés en la epigenética sin precedentes (Cold Spring Harbor Simposio sobre Biología Cuantitativa de 2004; Haig, 2012).

El problema

No es difícil encontrar artículos en la literatura científica actual que utilizan el término epigenética en el sentido de cualquiera de las definiciones anteriores u otras. Es inútil discutir sobre la validez de cualquier definición; sin embargo, es importante reconocer que la falta de una definición universal produjo ambigüedad en su significado. Como ha reconocido Haig (2004) y otros (Bird, 2007; Haig, 2012; Mann, 2014), lo que tenemos hoy es una dicotomía pronunciada dentro del campo de la epigenética. La epigenética de Waddington que describe la interacción de los elementos genéticos y citoplasmáticos que producen fenotipos emergentes (Van Speybroeck, 2002; Jamniczky *et al.*, 2010) y las ciencias biológicas interesadas en las interacciones gen-medio ambiente y la plasticidad fenotípica, utilizan el término en este sentido. Como resultado, la definición de Waddington se utiliza en gran medida para describir la expresión de fenotipos

través del medio ambiente, sobre todo en los campos de la ecología (Rollo de, 1994; Pigliucci, 2007; Bossdorf *et al.*, 2008) y fisiología (Jablonka, 2004; Aguilera *et al.*, 2010; Ho y Burggren, 2010). Los que investigan en el campo de la genética y se ocupan de procesos como: la metilación del ADN, los estados de diferente actividad de la cromatina, la impronta cromosómica, la función del centrómero, etc., utilizan predominantemente la noción de epigenética de Holliday. Ellos están interesados en cómo persisten los patrones de expresión a través de diferentes células (mitosis) y generaciones (meiosis). Los fenómenos que describen estos dos grupos, y lo más importante, los mecanismos que subyacen a ellos, son muy diferentes, pero ambos utilizan el mismo término: epigenética.

Esta ambigüedad ha dificultado la simple tarea de identificar los fenómenos epigenéticos y también limita a las investigaciones más avanzadas para determinar cómo se producen los procesos epigenéticos. Después de todo, ¿cómo pueden los científicos estudiar con eficacia un proceso cuando ni siquiera pueden ponerse de acuerdo sobre cómo definirlo? Con el uso del término epigenética aumentando exponencialmente a través de la literatura científica, uno debe preguntarse: ¿por qué no tenemos una más clara comprensión de la epigenética?

El principal desafío es reconciliar la epigenética de Waddington con la epigenética de Holliday, porque aunque ambas existen, no necesariamente están relacionadas entre sí. ¿Hay espacio dentro del mismo campo de estudio para ambas definiciones? Por otra parte, ¿pueden los fenómenos que subyacen a cada definición ser categorizados juntos, sobre todo cuando su relación se basa sobre todo en la historia y la semántica? Responder esta pregunta es importante para encausar esta área de estudio, facilitar los intercambios entre los investigadores y desarrollar objetivos de investigación más claros.

El segundo reto consiste en abordar los problemas metodológicos que se han acumulado en el campo de la epigenética a lo largo del tiempo, debido a la falta de una definición clara. Los principios que constituyen la base de cualquier campo biológico existen para dirigir la investigación y lograr objetivos dentro de este ámbito. Sin embargo, sin estos cimientos claros, nuestro deseo de entender la epigenética, ha dictado nuestros enfoques experimentales, influido en nuestras interpretaciones mecanicistas y hecho pasar por alto las deficiencias. En lugar de crecer a partir de primeros principios claros, el campo de la epigenética, sigue atrapando todos los fenómenos genéticos desconcertantes cuyas categorizaciones y justificaciones se desarrollaron a posteriori. Trabajar hacia atrás para reevaluar los primeros principios de la epigenética ayudará a encausar la epigenética.

Reflexiones sobre Términos importantes: dependencia, secuencia de ADN y heredabilidad

Comprender por qué algunos genes se activan o desactivan es ciertamente menos misterioso ahora que cuando nació la epigenética, en gran parte debido a la identificación de las interacciones reguladoras gen-gen y gen-proteína. Estos hallazgos logran explicar los cambios en la expresión génica que Waddington denominó epigenética, pero la verdadera dificultad está en la satisfacer la heredabilidad de Holliday. Estos componentes reguladores están codificados por el ADN; sin embargo, la concepción epigenética de Holliday requiere que el estado de la expresión génica sea hereditario y no sólo los componentes necesarios para la expresión génica. Además, este fenómeno requiere un modo adicional de herencia que no depende de la secuencia de ADN. Para comprender plenamente la definición de Holliday, lo primero que debe asegurarse es que todos los elementos están definidos con precisión. Esto requiere no sólo una mirada crítica de cómo la descripción de Holliday define los términos dependencia, secuencia de ADN y la heredabilidad, sino también toda la gama de posibles significados.

Dependencia

El término dependencia tiene varios significados posibles. En un sentido estricto, cualquier molécula que no pueda existir en ausencia de ADN, podría ser considerada como dependiente de este. Por lo tanto, cualquier molécula o proceso basado en el ADN para su síntesis, perpetuación y/o activación es dependiente de este, y esto incluye cualquier molécula que requiera al ADN como sustrato. Desde esta perspectiva, todo desde las metiltransferasas de ADN (DMNTs), expresadas por genes DMNT específicos, hasta las histonas, que utilizan al ADN como sustrato durante la modificación, serían considerados dependientes de ADN.

Es probable, sin embargo, que Holliday y otros podrían argumentar que este no es el significado que tenían en mente cuando hicieron esta distinción. En lugar de ello, se referían a la dependencia en un sentido más estricto, como la relación entre la ubicación de un locus cromosómico particular, la secuencia específica de pares de bases dentro de ese locus y su estado de expresión (Holliday, 1994). Por ejemplo, el argumento de Holliday es que la capacidad de la misma secuencia de ADN para producir diferentes perfiles de expresión, sin un cambio de pares de bases, muestra una falta de dependencia en la secuencia primaria y que algo que está fuera de la secuencia debe ser quien controla la expresión. Esto requiere entonces que entendamos lo que se significa, "por la secuencia de ADN".

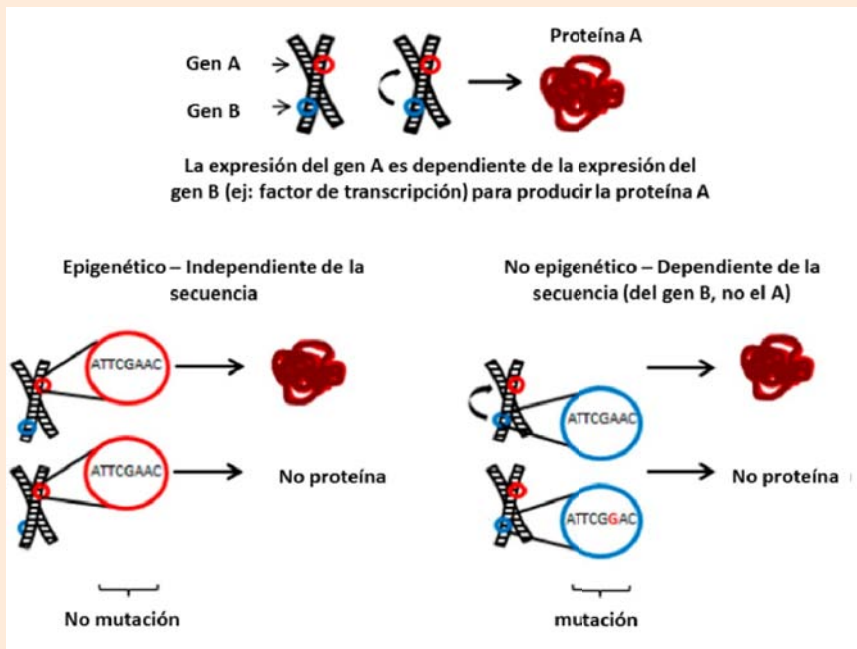


Figura 1. Imagínese que la expresión de un gen A depende de la expresión del gen B (un factor de transcripción). Si vemos una expresión variable de A, pero ningún cambio en la secuencia del gen A, podemos concluir que la expresión de A es independiente de la secuencia de ser independiente y un producto de la epigenética, como se muestra a continuación. Sin embargo, es posible que se hayan producido cambios en la secuencia del gen B, produciendo estos cambios transcripcionales en A. Esto haría que la expresión A sea dependiente de la secuencia primaria del gen de la B, pero no de la secuencia de A en sí mismo. Esto hace que la tarea de probar la independencia en la secuencia sea difícil porque no se puede simplemente buscar cambios en la secuencia de la región codificante del gen en cuestión, sino que también se debe estar seguro de los cambios en la expresión no se deban a mutaciones en otros lugares en el cromosoma o en otros lugares en el genoma.

Secuencia de ADN

A menudo, muchas características de la secuencia de ADN se pasan por alto y son poco apreciadas. La mayoría de los genetistas se ocupan principalmente de las regiones de eucromatina que contienen secuencias que componen genes y codifican proteínas. Esto en sí mismo no sorprende, dado que estas son las porciones de ADN responsables de la producción de la mayoría de las proteínas vitales para la supervivencia y función celular. Las secuencias repetitivas, incluyendo las que se encuentran en heterocromatina, a menudo se consideran menos importantes y son comúnmente llamadas ADN basura (Ohno, 1972; Brosius y Gould, 1992; Kapranov y Laurent, 2012; Graur *et al.*, 2013). La incertidumbre acerca de las secuencias repetitivas probablemente se debe al hecho de que su función no es muy conocida, y que las herramientas para su investigación están sin desarrollar. El sesgo hacia las regiones codificantes de proteínas y la dificultad de trabajar con secuencias repetitivas ha dado forma, y quizás limitado, nuestra comprensión del papel que juega la secuencia de un gen en su expresión génica. Sin embargo, hay evidencia de que otros aspectos del ADN, además de su secuencia, son importantes para la expresión génica.

Un ejemplo es que la expresión de un gen puede depender de otras secuencias que se encuentran fuera de la región codificante (elementos reguladores cis y trans o secuencias repetitivas). Esto dificulta entender, y por lo tanto rechazar, una relación entre la expresión génica y la secuencia primaria, debido a que la expresión de un gen puede ser dependiente de la secuencia primaria de otra sección de ADN (véase la Figura 1). Estos problemas se resuelven mediante la ampliación de la definición de gen

para incluir elementos reguladores y el requisito riguroso de mapear el locus genético responsable de los cambios regulatorios. El primero se logra fácilmente (aunque a menudo existen dificultades para determinar con precisión los límites de un gen), mientras que el segundo rara vez se persigue en la literatura epigenética.

Una segunda característica, que a menudo se pasa por alto de la secuencia de ADN, es su ubicación que puede afectar la expresión génica tanto de regiones codificantes como no codificantes. La variegación por efecto de la posición (PEV) demuestra que mover una secuencia de genes a una ubicación diferente dentro del genoma puede afectar su expresión (Gowen y Gay, 1934; Spofford, 1976; Karpen, 1994), y en estos casos la no dependencia todavía es sostenida por la mayoría de los epigenéticos, siempre y cuando no se produzcan cambios en la secuencia transpuesta. Pero ¿por qué es vista como poco importante la localización de una secuencia de genes? Para aquellos que utilizan la transgénesis, una práctica común en biología, está claro que la ubicación de un transgén insertado tiene efectos significativos en su expresión (Al-Shawi *et al.*, 1990; Wilson *et al.*, 1990). De hecho, Waddington explícitamente promovió la idea de incorporar la disposición de los genes como un elemento del genotipo debido a sus importantes efectos en la expresión (Waddington, 1939).

Una tercera característica destacada de la secuencia de ADN es el número de copias de secuencias cercanas. Investigaciones previas han demostrado que las regiones repetidas pueden desempeñar importantes funciones reguladoras (Lemos *et al.*, 2008; Zhou *et al.*, 2012) y que la proximidad de las regiones codificantes a las repeticiones (Dorer y Henikoff, 1997), así como el tamaño de las regiones repetidas

(Howe y otros, 1995; Paredes *et al.*, 2011; Sentmanat y Elgin, 2012), pueden tener efectos únicos sobre la expresión génica y la estructura de la cromatina. Esto significa que los cambios en las regiones repetidas, que son notoriamente difíciles de detectar, también deben descartarse para mostrar con precisión la independencia de la secuencia.

Heredabilidad

Tal vez el elemento más importante y definitivo presente en las definiciones de la epigenética, es la heredabilidad de los estados de expresión. Con esta adición se podría decir que la definición de la epigenética se amplió y se contrajo al mismo tiempo. Por un lado, la incorporación de heredabilidad en la discusión nos obliga a considerar la epigenética a un nivel más conceptual al pensar en el papel del tiempo y la relación entre el estímulo que provoca un cambio en la expresión y los efectos duraderos o efímeros de ese cambio. Por otra parte, si para que un fenotipo sea considerado epigenético se requiere que los cambios en la expresión persistan a través de la mitosis y/o meiosis, esto reduce drásticamente el número de observaciones que califican. Por estas razones, este aspecto de la definición de Holliday es la más controvertida, en particular, ya que requiere el reconocimiento de un nuevo modo de herencia.

Desde una perspectiva semántica, la inclusión de heredabilidad también amplía el significado del término en sí mismo, que tradicionalmente se ha relacionado con la transferencia de solo ADN. El uso de heredabilidad para describir la transferencia de moléculas que no son ADN, sino grupos metilo, histonas, o compuestos citoplasmáticos, amplía el concepto de herencia de una manera intrigante. Sin embargo, la definición de Holliday en realidad no diferencia entre herencia y transferencia de moléculas, ni indica qué tipo de moléculas puede y no ser heredada. Sin esta distinción es muy difícil separar los fenómenos epigenéticos de los no-epigenéticos, y también investigar cómo pueden funcionar tales modos de herencia.

El concepto de heredabilidad de Holliday también produce varias complicaciones en la práctica. En primer lugar, puede ser sorprendentemente difícil discernir entre los cambios en la expresión génica debido a la herencia de un estado de expresión y los producidos por una reacción a un estímulo en tiempo real. Para demostrar que la expresión de un estado se hereda, primero se tiene que tener una clara comprensión de la causa (es decir, el estímulo). Conociendo la relación entre un estímulo dado y su efecto en la expresión es primordial la creación de una cronología que de manera concluyente muestre que existe una barrera entre los dos para que la herencia sea necesaria. Por ejemplo, esto implicaría que una

célula madre u organismo experimentó un estímulo que causó un patrón de expresión específico y que luego un patrón de expresión similar también ocurrió en la descendencia sin que esta haya experimentado el estímulo inicial.

Mientras que estas conexiones son bastante fáciles de conceptualizar, pueden ser difíciles de probar empíricamente, no sólo porque la expresión de genes puede ser caprichosa, sino porque en muchos casos los estímulos que impactan un padre también puede afectar las células germinales que residen en la matriz, y que en última instancia van a producir las células de las hijas y/o hijos. Si las células germinales responden a un estímulo experimentado por los padres, no existe ninguna barrera entre el estímulo y la descendencia, porque la expresión en las células primordiales de la futura descendencia también se vio afectada directamente. Por ejemplo, en los mamíferos, los estímulos que impactan en una hembra embarazada de otras hembras pueden repercutir en la madre, el feto, y las células germinales del feto que producirán la descendencia (Youngson y Whitelaw, 2008; Daxinger y Whitelaw, 2012; Dias y Ressler, 2014). Esto significa que cualquier estímulo experimentado por la madre también puede dar lugar a la exposición directa a dos generaciones adicionales. En este escenario, uno tendría que demostrar una similitud en la expresión entre la madre y su bisneta para verificar una posible conexión epigenética (Skinner, 2007; Skinner *et al.*, 2013). Sin embargo, si el patrón de expresión de la célula germinal original fuera evidente en la descendencia, sería todavía posible satisfacer la definición de Holliday, porque habría persistido a través de la mitosis (Holliday, 1994). Esto ha llevado a algunas aclaraciones en la identificación de los fenómenos epigenéticos, pero esos intentos aún tienen que definir claramente las opiniones de Waddington y Holliday (Youngson y Whitelaw, 2008; Berger *et al.*, 2009; Grossniklaus *et al.*, 2013; Dias y Ressler, 2014).

La principal dificultad radica en identificar el mecanismo de la herencia. ¿Los compuestos responsables de la perpetuación de un patrón de expresión han de estar estrechamente asociados con el ADN, como en la modificación de la cromatina y la metilación, o pueden incluir también a los compuestos citoplasmáticos? Si es así, ¿la transferencia de compuestos citoplasmáticos realmente puede ser considerada herencia? Waddington hizo hincapié en la importancia de los compuestos citoplasmáticos y su efecto sobre la expresión génica (Waddington, 1935), sin embargo, los efectos maternos o transgeneracionales mediados por transferencia citoplasmática de madre a hijo, no se considera epigenética bajo la definición de Holliday, debido a que el patrón de expresión de la descendencia no es independiente y simplemente resulta de la

transferencia de compuestos citoplasmáticos, tales como ARN, factores de transcripción, priones, etc. (Ptashne, 2008; Jarosz *et al.*, 2014). Estos problemas hacen mucho más evidente el contraste entre la epigenética de Waddington y la de Holliday.

Soluciones posibles

La ambigüedad que rodea el campo de la epigenética, así como la base histórica de esta confusión, ha sido discutida por muchos en los últimos quince (Holliday, 2002, 2006; Jablonka y Lamb, 2002; Haig, 2004; Bird, 2007; Berger *et al.*, 2009; Mann, 2014). Esto llevó al desarrollo de varios términos y definiciones nuevas para ayudar a aclarar el tema. Bird (2007) propone que la epigenética podría redefinirse como "la adaptación estructural de regiones cromosómicas para registrar, señalar o perpetuar la actividad de los estados alterados", definición que el autor siente que unifica los requerimientos de heredabilidad de Holliday con la definición más general de Waddington. Mann (2014) también abogó por mantener un concepto amplio de epigenética, pero propuso el término "memigenético" para denotar estados de expresión hereditarios. A pesar de estas sugerencias, aún no se ha adoptado una definición fuerte para la epigenética, y creemos que esto resulta en gran medida a partir de (1) el intento de combinar las definiciones de Holliday y Waddington en un término amplio y (2) la ausencia de términos específicos, dentro de las definiciones disponibles, que identifiquen los componentes mecánicos subyacentes en el fenómeno epigenético.

Sentimos que no es posible conciliar, el enfoque de Waddington sobre la regulación de genes con los criterios más específicos de Holliday, dentro de un mismo campo de estudio y aún así mantener el nivel de la claridad necesaria para producir una definición útil. Los esfuerzos para preservar una relación entre estas dos concepciones se han deteriorado por el hecho de que hay demasiados fenómenos, con muy pocas conexiones mecánicas, para categorizarlos en un mismo campo. Asimismo, entre las definiciones que mantienen el requisito de la heredabilidad, sentimos que les falta el detalle de ser funcionalmente útil para dirigir la verificación de hipótesis específicas, particularmente en lo que se refiere a la localización (citoplasma o el núcleo) de los fenómenos epigenéticos. Para mitigar estas deficiencias, abogamos por la definición de la epigenética como "el estudio de los fenómenos y mecanismos limitados a los cromosomas que causan cambios hereditarios en la expresión de genes y que no son dependientes de la modificación en la secuencia de ADN."

Creemos que esta definición hace una fuerte distinción entre la regulación de genes (definición de Waddington) y la herencia

epigenética (definición de Holliday), y también hace hincapié en que los fenómenos epigenéticos deben ocuparse exclusivamente de cambios ocurridos en los cromosomas. Al hacer esta distinción, hemos separado de manera eficiente los cambios en la expresión causados por compuestos citoplasmáticos, que están más estrechamente relacionados con la regulación de genes, de los que ocurren en o en estrecha asociación con el cromosoma. Haciendo esto que el enfoque de la epigenética sea mucho más claro e identifica más explícitamente los mecanismos epigenéticos.

Creemos que esta definición afecta a varios elementos importantes que no estaban incluidos en otras definiciones, aunque estaban implicados en la mayoría de ellas. A fin de explicar el razonamiento detrás de nuestra definición, así como su utilidad para mejorar la investigación epigenética, nos gustaría ofrecer una aclaración.

Aclaración

En la batalla entre las definiciones de Waddington y Holliday, hemos optado claramente por la conceptualización de Holliday, y esto es por dos razones. En primer lugar, aunque el uso de la definición general de Waddington aumentó en las disciplinas no genéticas, particularmente la ecología y la fisiología, para describir la variedad de fenotipos y la plasticidad de un rasgo a través del medio ambiente, nos parece que estos casos encajan más claramente en casos de regulación génica. En segundo lugar, los fenómenos que plantean los retos más importantes para la teoría genética tradicional, la cual dicta que secuencias idénticas de ADN deben comportarse de forma idéntica, son la impronta genómica, la inactivación del cromosoma X en los mamíferos, el establecimiento y estabilidad del centrómero y telómeros (McClintock, 1939; Ahmad y Golic, 1998; Barry *et al.*, 2000; Maggert y Karpen, 2001; Blasco, 2007; Negro y Cleveland, 2011; Mendiburo *et al.*, 2011), y tal vez otros. La mayor parte del trabajo sobre estos temas ha ocurrido, y sigue ocurriendo, dentro del campo de la genética, y creemos que la epigenética se adapta más apropiadamente dentro del ámbito de la genética, dada los fuertes precedentes en la investigación. Dicho esto, queremos aclarar algunos puntos con respecto a la definición de Holliday y el estado actual del campo de la epigenética.

El agregado de Holliday sobre la herencia de los estados de expresión surgió como una hipótesis para explicar los fenómenos mencionados anteriormente. Sin embargo, en lugar de esta hipótesis ser probada a fondo, se perpetuaron rápidamente varias ideas nuevas con respecto a los posibles mecanismos de la herencia (metilación, modificaciones de las histonas, etc.)

sin pruebas empíricas sólidas de la necesidad de tales mecanismos. Aunque las ideas de Holliday en la perpetuación de los estados de expresión y memoria celular, son innovadores y pueden llegar a ser exactas, nos parece que ha sido pasado por alto un paso importante en el proceso de desarrollo de estas ideas. Esto es particularmente cierto cuando los intentos para validar estas hipótesis no han, hasta el momento, resultado concluyentes. ¿Qué significa decir que la metilación del ADN es represiva cuando la activación de un gen elimina la metilación (por ejemplo, Bird, 2002; Nagae *et al.*, 2011; Hackett *et al.*, 2012; Qian *et al.*, 2012; Gan *et al.*, 2013; Xie *et al.*, 2013; Bestor *et al.*, 2014)? La búsqueda del mecanismo de modificación semiconservativa de las histonas continúa (Trato *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Nakano *et al.*, 2011; Tran *et al.*, 2012; Whitehouse y Smith, 2013) a pesar de la evidencia de que las modificaciones responden a un estado expresión más que al control de este (Kilpinen *et al.*, 2013; Ptashne, 2014; Teves *et al.*, 2014). No es que la modificación de histonas y la metilación del ADN no están correlacionados con la diferencia en la expresión de genes, lo están, pero la posibilidad de que puedan ser la respuesta y no la causa no ha sido refutado (Henikoff, 2005; Ptashne, 2013). Nosotros incluimos la relación causal en nuestra definición para reflejar estas deficiencias, en reconocimiento de estas deficiencias en cuanto a la secuenciación de regiones repetidas y la conceptualización de términos importantes (secuencia de ADN y heredabilidad) discutidos anteriormente, y como un intento de estimular la investigación que se centra en estos aspectos.

La definición de la epigenética propuesta anteriormente contiene el término, necesariamente vago de "expresión génica", con el fin de no excluir, a priori, ninguna unidad de herencia, incluyendo proteínas de genes codificantes, telómeros, centrómeros, productos génicos de ARN funcionales (como el ARNr, miRNAs, pi/siRNAs, etc.), los orígenes de replicación, cuartetos G, inestabilidades del genoma, o cualquier otra cosa que se pueda manifestar en un fenotipo. Nuestra inclusión explícita de "limitado a un cromosoma" abarca

el ya implícito uso popular del término epigenética, donde los cambios locales en la expresión de genes son inducidos y heredados en el gen específico que está siendo regulado. Esta declaración explícita añadida a la definición de Holliday de 1994, asegura dos cosas, en primer lugar, que la epigenética no se infiere de los factores citoplasmáticos o del nucleoplasma, por ejemplo, la perduración de un factor de transcripción proteico (Ptashne, 2013). En segundo lugar, que la "memoria heredable" (en lugar de "herencia") es una propiedad explícita de la regulación epigenética de los genes. Los ejemplos más citados de fenómenos epigenéticos (por ejemplo, la impronta genómica) cumplen con estos criterios, y otros casos que son más dudosos quedan excluidos hasta una mejor comprensión (por ejemplo, sensibilidad al estrés en hijos de madres embarazadas estresadas).

Conclusiones

El legado de Waddington, y más tarde de Holliday y otros, ha enriquecido nuestra comprensión de la estructura de la cromatina, la expresión génica influencia del medio ambiente y capacidades no deterministas de los genes. Sin embargo, sin la comprensión de la historia del término epigenética, y el bagaje que viene junto con sus diferentes usos, corremos riesgos reales en la biología. Si bien la expresión génica, la metilación del ADN, los ARN reguladores, las modificaciones de histonas, la estabilidad mitótica y la herencia transgeneracional están todos correlacionados y se entrelazan, debemos resistir la tentación de equiparar a todos ellos de manera mecánica. Debemos rechazar totalmente la idea de que lo que se aprende en un caso (la herencia mitótica de patrones de metilación del ADN en regiones de control con impronta genómica) son predictivos de las propiedades de otros casos (metilación provoca cambios inducibles y estados ARNm de transcripción meióticamente heredables) simplemente porque comparten el mismo término mal definido de "epigenética".

Referencias Bibliográficas

Nota: la bibliografía de la sección «Traducciones» es citada y reproducida tal cual figura en el artículo original.

- Aguilera O., Fernández A. F., Muñoz A., Fraga M. F., 2010 Epigenetics and environment: a complex relationship. *J. Appl. Phys.* 109: 243–251.
- Ahmad K., Golic K. G., 1998 The transmission of fragmented chromosomes in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 148: 775–792.
- Al-Shawi R., Kinnaid J., Burke J., Bishop J. O., 1990 Expression of a foreign gene in a line of transgenic mice is modulated by a chromosomal position effect. *Mol. Cell. Biol.* 10: 1192–1198.
- Anway M. D., Cupp A. S., Uzumcu M., Skinner M. K., 2005 Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 308: 1466–1469.
- Barry A. E., Bateman M., Howman E. V., Cancilla M. R., Tainton K. M., *et al.*, 2000 The 10q25 neocentromere and its inactive progenitor have

- identical primary nucleotide sequence: further evidence for epigenetic modification. *Genome Res.* 10: 832–838.
- Beadle G. W., Tatum E. L., 1941 Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 27: 499–506.
- Berger S. L., Kouzarides T., Shikhattar R., Shilatifard A., 2009 An operational definition of epigenetics. *Genes Dev.* 23: 781–783.
- Bestor T. H., Edwards J. R., Boulard M., 2014 Notes on the role of dynamic DNA methylation in mammalian development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014: 15301.
- Bird A., 2002 DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 16: 6–21.
- Bird A., 2007 Perceptions of epigenetics. *Nature* 447: 396–398.

- Bird A., Taggart M., Frommer M., Miller O. J., Macleod D., 1985 A fraction of the mouse genome that is derived from islands of nonmethylated, CpG-rich DNA. *Cell* 50: 91-99.
- Black B. E., Cleveland D. W., 2011 Epigenetic centromere propagation and the nature of CENP-A nucleosomes. *Cell* 144: 471-479.
- Blackwell T. K., Alt F. W., 1989 Mechanism and developmental program of immunoglobulin gene rearrangement in mammals. *Annu. Rev. Genet.* 23: 605-636.
- Blasco M. A., 2007 The epigenetic regulation of mammalian telomeres. *Nat. Rev. Genet.* 8: 299-309.
- Boschdorf O., Richards C. L., Pigliucci M., 2008 Epigenetics for ecologists. *Ecol. Lett.* 11: 106-115.
- Brink R. A., 1956 A genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible. *Genetics* 41: 872-889.
- Brosius J., Gould S. J., 1992 On "genomenclature": a comprehensive (and respectful) taxonomy for pseudogenes and other "junk DNA". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10706-10710.
- Buescher J. L., Musselman L. P., Wilson C. A., Lang T., Keleher M., et al., 2013 Evidence for transgenerational metabolic programming in *Drosophila*. *Dis. Model. Mech.* 6: 1123-1132.
- Burris H. H., Baccarelli A. A., 2014 Environmental epigenetics: from novelty to scientific discipline. *J. Appl. Toxicol.* 34: 114-116.
- Clark L., Carbon J., 1985 The structure and function of yeast centromeres. *Annu. Rev. Genet.* 19: 29-55.
- Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology (Vol. LXIX), 2004 Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Crews D., Gillette R., Scarpino S. V., Manikkam M., Savenkova M. I., et al., 2012 Epigenetic transgenerational inheritance of altered stress responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 9143-9148.
- Daxinger L., Whitelaw E., 2012 Understanding transgenerational epigenetics inheritance via the gametes in mammals. *Nat. Rev. Genet.* 13: 153-162.
- de Vanssay A., Bougé A., Boivin A., Hermant C., Teyssset L., et al., 2012 Paramutation in *Drosophila* linked to emergence of a piRNA-producing locus. *Nature* 490: 112-115.
- Deal R. B., Henikoff J. G., Henikoff S., 2010 Genome-wide kinetics of nucleosome turnover determined by metabolic labeling of histones. *Science* 328: 1161-1164.
- Dias B. G., Ressler K. J., 2014 Experimental evidence needed to demonstrate inter- and trans-generational effects of ancestral experiences in mammals. *BioEssays* 36: 919-923.
- Dorer R., Henikoff S., 1997 Transgene repeat arrays interact with distant heterochromatin and cause silencing in cis and trans. *Genetics* 147: 1181-1190.
- Dupont C., Armant D. R., Brenner C. A., 2009 Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective. *Semin. Reprod. Med.* 27: 351-357.
- Ephrussi B., 1953 *Nucleo-Cytoplasmic Relations in Micro-Organisms. Their Bearing on Cell Heredity and Differentiation*, Oxford University Press, Oxford, UK.
- Ephrussi B., 1958 The cytoplasm and somatic cell variation. *J. Cell. Comp. Physiol.* 52: 35-52.
- Gan J. K., Zhang D. X., He D. L., Zhang X. Q., Chen Z. Y., et al., 2013 Promoter methylation negatively correlated with mRNA expression but not tissue differential expression after heat stress. *Genet. Mol. Res.* 12: 809-819.
- Gapp K., Jawaid A., Sarkis P., Bohacek J., Pelczar P., et al., 2014 Implications of sperm RNA in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice. *Nat. Neurosci.* 17: 667-669.
- Gowen J. W., Gay E. H., 1934 Chromosome constitution and behavior in eversion and mottling in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 19: 189-208.
- Graur D., Zheng Y., Price N., Azevedo R. B., Zufall R. A., et al., 2013 On the immortality of television sets: "function" in the human genome according to the evolution-free gospel of ENCODE. *Genome Biol. Evol.* 5: 578-590.
- Greer E. L., Maures T. J., Ucar D., Hauswirth A. G., Mancini E., et al., 2011 Transgenerational epigenetic inheritance of longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 479: 365-371.
- Grossniklaus U., Kelly W. G., Ferguson-Smith A. C., Pembrey M., Lindquist S., 2013 Transgenerational epigenetic inheritance: How important is it? *Nat. Rev. Genet.* 14: 228-235.
- Haber J. E., 1998 Mating-type gene switching in *Saccharomyces cerevisiae*. *Annu. Rev. Genet.* 32: 561-599.
- Hackett J. A., Sengupta R., Zyllicz J. J., Murakami K., Lee C., et al., 2012 Germline DNA demethylation dynamics and imprint erasure through 5-hydroxymethylcytosine. *Science* 339: 448-452.
- Hadorn E., 1955 *Developmental Genetics and Lethal Factors*. Methuen, London. First published in German, 1955: G. T. Verlag, Stuttgart.
- Haig D., 2004 *The (Dual) Origin of Epigenetics*. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, Vol. LXIX. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Haig D., 2012 Commentary: The epidemiology of epigenetics. *Int. J. Epidemiol.* 41: 13-16.
- Hall B. K., 1992 *Evolutionary Developmental Biology*, Chapman & Hall, London.
- Hamburger, V., 1960 *A Manual of Experimental Embryology*, University of Chicago Press, Chicago.
- Hawley R. S., Marcus C. H., 1989 Recombinational controls of rDNA redundancy in *Drosophila*. *Annu. Rev. Genet.* 23: 87-120.
- Henikoff S., 2005 Histone modifications: combinatorial complexity or cumulative simplicity? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 5308-5309.
- Ho D. H., Burggren W. W., 2010 Epigenetics and transgenerational transfer: a physiological perspective. *J. Exp. Biol.* 213: 3-16.
- Holliday R., 1994 Epigenetics: an overview. *Dev. Genet.* 15: 453-457.
- Holliday R., 2002 Epigenetics comes of age in the twenty-first century. *J. Genet.* 81: 1-4.
- Holliday R., 2006 Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics* 1: 76-90.
- Holliday R., Pugh J. E., 1975 DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 187: 226-232.
- Howe M., Dimitri P., Berloco M., Wakimoto B. T., 1995 Cis-effects of heterochromatin on heterochromatic and euchromatic gene activity in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 140: 1033-1045.
- Huxley J., 1956 *Epigenetics*. Nature 177: 807-809.
- Jablonka E., 2004 Epigenetic epidemiology. *Int. J. Epidemiol.* 33: 929-935.
- Jablonka E., Lamb M. J., 2002 The changing concept of epigenetics. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 981: 82-96.
- Jamniczky H. A., Boughner J. C., Rolian C., Gonzalez P. N., Powell C. D., et al., 2010 Rediscovering Waddington in the post-genomic age. *BioEssays* 32: 553-558.
- Jarosz D. F., Brown J. C., Walker G. A., Datta M. S., Ung W. L., et al., 2014 Cross-kingdom chemical communication drives a heritable, mutually beneficial prion-based transformation of metabolism. *Cell* 158: 1083-1093.
- Johannsen, W., 1909 *Elemente der exakten Erblchkeitslehre*. Gustav Fischer, Jena, Germany.
- Jones P. A., Taylor S. M., 1980 Cellular differentiation, cytidine analogs, and DNA methylation. *Cell* 20: 85-93.
- Kapranov, P., and G. S. Laurent, 2012 Dark matter RNA: existence, function, and controversy, pp. 7-15 in *Genomic "Dark Matter": Implications for Understanding Human Disease Mechanisms, Diagnostics, and Cures*, hosted by P. Kapranov. *Frontiers Media S. A., Switzerland*.
- Karpen G. H., 1994 Position-effect variegation and the new biology of heterochromatin. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 4: 281-291.
- Kilpinen H., Waszak S. M., Gschwind A. R., Raghav S. K., Orioli A., et al., 2013 Coordinated effects of sequence variation on DNA binding, chromatin structure, and transcription. *Science* 342: 744-747.
- Lederberg J., 1958 Genetic approaches to somatic cell variation: summary content. *J. Cell. Comp. Physiol.* 52: 383-401.
- Lemos B., Arape L. O., Hartl D. L., 2008 Polymorphic Y chromosomes harbor cryptic variation with manifold functional consequences. *Science* 319: 91-93.
- Lincoln R. J., Boxshall G. A., Clark P. F., 1982 *Dictionary of Ecology, Evolution and Systematics*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Maggert K. A., Karpen G. H., 2001 The activation of a neocentromere in *Drosophila* requires proximity to an endogenous centromere. *Genetics* 158: 1615-1628.
- Mann J. R., 2014 Epigenetics and memigenetics. *Cell. Mol. Sci.* 71: 1117-1122.
- McClintock B., 1939 The behavior of successive nuclear divisions of a chromosome broken in meiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 25: 405-416.
- McClintock, B., 1983 The significance of responses of the genome to challenge, pp. 393-402 in *Essential Readings in Evolutionary Biology*, edited by F. J. Ayala, and J. C. Avise. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Medawar P., Medawar J., 1983 *Aristotle to Zoos*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Mendiburo M. J., Padeken J., Fülöp S., Schepers A., Heun P., 2011 *Drosophila* CENH3 is sufficient for centromere formation. *Science* 334: 686-690.
- Nagae G., Isagawa T., Shiraki N., Fujita T., Yamamoto S., 2011 Tissue-specific demethylation in CpG-poor promoters during cellular differentiation. *Hum. Mol. Genet.* 20: 2710-2721.
- Nakano S., Stillman B., Horvitz H. R., 2011 Replication-coupled chromatin assembly generates neuronal bilateral asymmetry in *C. elegans*. *Cell* 147: 1525-1536.
- Nanney D. L., 1953 Nucleo-cytoplasmic interaction during conjugation in *Tetrahymena*. *Biol. Bull.* 105: 133-148.
- Nanney D. L., Caughey P. A., Tefankjian A., 1955 The genetic control of mating type potentialities in *Tetrahymena pyriformis*. *Genetics* 40: 668-680.
- McElroy W. D., Glass B., Nanney D. L., 1957 The role of the cytoplasm in heredity, p. 134 in *The Chemical Basis of Heredity*, edited by McElroy W. D., Glass B., Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Nanney D. L., 1958a Epigenetic control systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 44: 712-717.
- Nanney D. L., 1958b Epigenetic factors affecting mating type expression in certain ciliates. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 23: 327-335.
- Ngun T. C., Vilain E., 2014 The biological basis of human sexual orientation: Is there a role for epigenetics? *Adv. Genet.* 86: 167-184.
- Smith H. H., Ohno S., 1972 So much "junk" DNA in the genome, pp. 366-370 in *Evolution of Genetic Systems in Brookhaven Symposia in Biology*, Vol. 23, edited by Smith H. H., Gordon & Breach, New York.
- Padmanabhan N., Jia D., Geary-Joo C., Wu X., Ferguson-Smith A. C., et al., 2013 Mutation in folate metabolism causes epigenetics instability and transgenerational effects on development. *Cell* 155: 81-93.
- Paredes S., Branco A. T., Hartl D. L., Maggert K. A., Lemos B., 2011 Ribosomal DNA deletions modulate genome-wide gene expression: "rDNA-sensitive" genes and natural variation. *PLoS Genet.* 7: e1001376.
- Pembrey M. E., Bygren L. O., Kaati G., Edvinsson S., Northstone K., et al., 2006 Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans.

Eur. J. Hum. Genet. 14: 159–166.

Piacentini L., Fanti L., Specchia V., Bozzetti M. P., Berloco M., et al., 2014 Transposons, environmental changes, and heritable induced phenotypic variability. *Chromosoma* 123: 345–354.

Pigliucci M., 2007 Do we need extended evolutionary synthesis? *Evolution* 61: 2743–2749.

Ptashne M., 2008 Transcription: a mechanism for short-term memory. *Curr. Biol.* 18: 25–27.

Ptashne M., 2013 Epigenetics: core misconception. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 7101–7103.

Ptashne M., 2014 The chemistry of regulation of genes and other things. *J. Biol. Chem.* 289: 5417–5435.

Qian W., Miki D., Zhang H., Liu Y., Zhang X., et al., 2012 A histone acetyltransferase regulates active DNA demethylation in *Arabidopsis*. *Science* 336: 1445–1448.

Riggs A. D., 1975 X inactivation, differentiation, and DNA methylation. *Cytogenet. Cell Genet.* 14: 9–25.

Rollo C. D., 1994 Phenotypes: Their Epigenetics, Ecology and Evolution, Springer-Verlag, New York.

Willier B. H., Oppenheimer J. M., Roux W., 1888 Contributions to the developmental mechanics of the embryo. On the artificial production of half-embryos by destruction of one of the first two blastomeres, and the later development (postgeneration) of the missing half of the body, pp. 2–37 in *Foundations of Experimental Embryology*, edited by Willier B. H., Oppenheimer J. M., Hafner Press, New York.

Serra R. W., Fang M., Park S. M., Hutchinson L., Green M. R., 2014 A KRAS-directed transcriptional silencing pathway that mediates the CpG island methylator phenotype. *eLife* 3: e02313.

Sentmanat M. F., Elgin S. C. R., 2012 Ectopic assembly of heterochromatin in *Drosophila melanogaster* triggered by transposable elements. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 14101–14109.

Siegal M. L., Bergman A., 2002 Waddington's canalization revisited: developmental stability and evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 10528–10532.

Skinner M. K., 2007 What is an epigenetic transgenerational phenotype? F3 or F2. *Reprod. Toxicol.* 25: 2–6.

Skinner M. K., Haque C. G. M., Nilsson E., Bhandari R., McCarrey J. R., 2013 Environmentally induced transgenerational epigenetic reprogramming of primordial germ cells and the subsequent germ line. *PLoS ONE* 8: e66318.

Spemann H., 1967 *Embryonic Development and Induction*, Yale University Press, New Haven, CT.

Ashburner M., Novitski E., Spofford J. B., 1976 *The Genetics and Biology of Drosophila*, pp. 955–1019, Vol. 1, Chap 24, edited by Ashburner M., Novitski E., Academic Press, Orlando, FL.

Steiner N. C., Clarke L., 1994 A novel epigenetic effect can alter centromere function in fission yeast. *Cell* 79: 865–874.

Stern S., Fridmann-Sirkis Y., Braun E., Soen Y., 2012 Epigenetically heritable alteration of fly development in response to toxic challenge. *Cell Reports* 1: 528–542.

Struhl K., 2014 Cancer: Is DNA methylation of tumour suppressor genes epigenetic? *eLife* 3: e02475.

Teves S. S., Weber C. M., Henikoff S., 2014 Transcribing through the nucleosome. *Trends Biochem. Sci.* 39: 577–586.

Tran V., C. Lim, J. Xie, and X. Chen, 2012 Asymmetric division of *Drosophila* male germline stem cell shows asymmetric histone distribution. *Science* 338: 679–682.

Van Speybroeck L., 2002 From epigenesis to epigenetics: the case of C. H. Waddington. *Ann. NY Acad. Sci.* 981: 61–81.

Voutounou M., Glen C. D., Dubrova Y. E., 2012 The effects of methyl-donor deficiency on mutation induction and transgenerational instability in mice. *Mutat. Res.* 734: 1–4.

Waddington C. H., 1935 *How Animals Develop*, pp. 123–124. George Allen & Unwin, London.

Waddington C. H., 1939 *An Introduction to Modern Genetics*, p. 155. The Macmillan Company, New York.

Waddington C. H., 1942a The epigenotype. *Endeavour* 1: 18.

Waddington C. H., 1942b Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* 150: 563–565.

Waddington C. H., 1956 *Embryology, epigenetics and biogenetics*. *Nature* 177: 1241.

Waddington C. H., 1957 *The Strategy of the Genes. A Discussion of Some Aspects of Theoretical Biology*, p. 262. Routledge, New York.

Wan M., Gu H., Wang J., Huang H., Zhao J., et al., 2013 Inducible mouse models illuminate parameters influencing epigenetic inheritance. *Development* 140: 843–852.

Whitehouse I., Smith D. J., 2013 Chromatin dynamics at the replication fork: there's more to life than histones. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 23: 140–146.

Wilson C., Bellen H. J., Gehring W. J., 1990 Position effects on eukaryotic gene expression. *Annu. Rev. Cell Biol.* 6: 679–714.

Wu C. T., Morris J. R., 2001 Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science* 293: 1103–1105.

Xie W., Schultz M. D., Lister R., Hou Z., Rajagopal N., et al., 2013 Epigenomic analysis of multilineage differentiation of human embryonic stem cells. *Cell* 153: 1134–1148.

Xu M., Long C., Chen X., Huang C., Chen S., et al., 2010 Partitioning of histone H3–H4 tetramers during RNA replication-dependent chromatin assembly. *Science* 328: 94–98.

Youngson N. A., Whitelaw E., 2008 Transgenerational epigenetic effects. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 9: 233–257.

Zhou J., Sackton T. B., Martinsen L., Lemos B., Eickbush T. H., et al., 2012 Y chromosome mediates ribosomal DNA silencing and modulates chromatin state in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 9941–9946.

Zhou Z., Enoch M. A., Goldman D., 2014 Gene expression in the addicted brain. *Int. Rev. Neurobiol.* 116: 251–273.

Zucchi F. C. R., Yao Y., Ward I. D., Ilnytsky Y., Olson D. M., et al., 2013 Maternal stress induces epigenetic signatures of psychiatric and neurological disease in the offspring. *PLoS ONE* 8: e56967.

