

# MicroRNAs 与多潜能干细胞的研究进展

王彩云, 杨世华\*

(昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500)

**摘要:** microRNAs (miRNAs) 是一类内源性非编码小 RNA, 通过调控基因表达来参与生命过程中的一系列重要进程。越来越多的证据表明, miRNAs 参与了几乎所有生物代谢过程, 其胚胎干细胞的自我更新与分化和在多能干细胞(iPSCs)中的诱导调节作用也日益受到关注。该文介绍了 miRNAs 的生成、检测方法以及 miRNAs 对胚胎干细胞(ESCs)及诱导多能性干细胞的调控作用, 并对 miRNAs 的应用前景进行了展望。

**关键词:** miRNAs; miRNAs 检测; 胚胎干细胞; 诱导多能性干细胞

**中图分类号:** Q522; Q813 **文献标志码:** A **文章编号:** 0254-5853-(2012)04-0416-05

## Research on MicroRNAs in pluripotent stem cells

WANG Cai-Yun, YANG Shi-Hua\*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

**Abstract:** MicroRNAs (miRNAs) are a newly identified class of small regulatory non-coding endogenous RNAs that take part in a series of important processes by regulating gene expression. Recent studies have provided evidence that miRNAs may be involved in nearly all biological and metabolic processes, especially influencing self-renewal and differentiation of embryonic stem cells (ESCs) and induced pluripotent stem cells (iPSCs). In this review, we briefly summarize the biological characteristics of miRNAs, the detection technologies, and the role of miRNAs regulation in ESCs and iPSCs to frame a discussion on the future prospects of miRNA research.

**Key words:** miRNAs; miRNAs detection; ESCs; iPSCs

微小核糖核酸 (microRNAs, miRNAs) 是细胞内一类长度在 20~25 nt 的非编码单链 RNA, 广泛存在于真菌和动、植物中, 在物种进化过程中高度保守。它的表达既具有时空特异性, 也具有组织和细胞特异性。编码 miRNAs 的序列可以位于编码或是非编码基因的内含子或者外显子附近, 也可以位于基因之间(Bartel, 2004; Rodriguez et al, 2004)。绝大部分 miRNAs 是在细胞核内由 RNA 聚合酶 II 转录生成(Kim, 2005), 其成熟先后在细胞核和细胞质中完成, 其中 *Dicer 1* 和 *DGCR 8* 是 miRNAs 成熟过程中两个重要基因(Ghildiyal & Zamore, 2009)。miRNAs 成熟后与 Argonaute1 (AGO1) 蛋白结合形成 RNA 诱导沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC), 通过与靶 mRNAs 的 3' 非翻译区(3'

UTR) 配对降解 mRNA 或抑制 mRNA 的翻译, 从而在转录后水平调控蛋白表达, 行使其多样的生物学功能(Tolia & Joshua-Tor, 2007)。最新研究表明, miRNAs 也能在转录水平调控基因表达。

在生物体内, 虽然 miRNAs 的作用是特异的, 但靶点特异性并不强, 往往一个 miRNA 可以靶向多个 mRNA, 而一个 mRNA 也可能是多个 miRNAs 的靶标, 这样就形成了以 miRNAs 为主的庞大调控网络, 从而从整体上调控生物体的生理进程(Tiscornia & Izpisua Belmonte, 2010; Zhang & Wen, 2010; Huang et al, 2008)。

### 1 miRNAs 的检测方法

miRNAs 检测方法的快速发展为研究其功能提

收稿日期: 2012-03-19; 接受日期: 2012-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071279); 云南省科技创新人才计划项目(2011CI009)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: yangsh@kmust.edu.cn

第一作者简介: 王彩云, 女, 硕士, E-mail: seeyun2010@163.com

供了良好的平台。目前 miRNAs 检测一般是基于核酸杂交与扩增的原理,主要有 Northern 印迹、实时定量 PCR、微阵列芯片等 3 种方法。Northern 印迹技术一直被应用于 miRNAs 的鉴定和 miRNAs 的发现,是目前 miRNAs 检测中最常用的方法,通常被用来作为新技术可靠性的验证手段;实时定量 PCR 主要用于定量检测 miRNAs,具有灵敏度高、线性范围宽、特异性好、重复性佳等特点,可以满足大多数 miRNAs 在组织和细胞中表达水平的研究;微阵列芯片(microarray)是实现 miRNAs 表达图谱分析和多种 miRNAs 高通量同时检测的主要技术,一般用于 miRNAs 的初筛实验。另外,利用高通量测序(High Throughput Sequencing)能在无需任何序列信息的前提下研究 microRNA 的表达图谱,还可发现和鉴定新的 microRNA 分子(Schulte et al, 2010)。此外,还有很多不同的检测手段也常用于 miRNAs 的检测,如 Chapin & Doyle (2011)报道了利用滚环扩增(RCA)在编码的凝胶微粒上对亚飞摩尔(sub-femto molar, 即 $<10^{-15}$  M)量级的 miRNA 进行多重定量检测,且能达到单分子的分辨率。该方法可以对极少量血清中的 miRNAs 进行直接检测而不需要提取 RNA。Harcourt & Kool (2012)利用滚环扩增检测 miRNAs 时,首次通过化学方式使 Q-STAR 探针自动成环,而不需要使用单独的连接酶进行环化反应,这在一定程度上降低了实验的复杂性和成本。这些新的检测技术不断被开发,为 miRNAs 的检测提供了新的思路。

## 2 miRNAs 调控胚胎干细胞的命运

胚胎干细胞(ESCs)具有无限自我更新以及分化成任何特定类型细胞的能力,表达着一套独特的、与细胞快速增殖和周期进展相关的 miRNAs。这些 miRNAs 主要包括 miR-302/367 家族(miR-302a/b/c/d 和 miR-367)(小鼠); miR-290-295 家族(miR-290/291a/291b/292/293/294 和 miR-295)和 miR-371-373 家族(miR-371/372/373)(人类)。研究 ESCs 的关键问题之一是了解其干性(stemness)维持和分化的机制,最近研究表明,miRNA 在调控胚胎干细胞自我更新和分化方面发挥着重要作用。

### 2.1 miRNAs 控制 ESCs 增殖

目前认为,miRNAs 可以通过作用于细胞周期抑制因子,来维持胚胎干细胞特殊的细胞周期进程。胚胎干细胞的细胞周期特殊性在于,其 G1 期

非常短,且缺失 G1/S 关卡。这就使得它可以无限制地由 G1 期向 S 期转变,进而快速增殖。然而,随着胚胎干细胞的分化,G1/S 关卡也就随之恢复。参与 ESCs 细胞周期调控的 miRNA 被称之为“胚胎干细胞调控型 miRNA(embryonic stem cell cycle regulating miRNA, ESCC miRNA)”。

研究发现,一些 miRNAs 在胚胎干细胞中会优先表达,如 miR-290 家族在未分化小鼠 ESCs 中高度表达,其表达水平随着 ESCs 的分化而迅速下降(Houbaviy et al, 2003),这些 miRNAs 可以促进细胞由 G1 期向 S 期转变,从而加速 ESCs 增殖(Wang et al, 2008; Lichner et al, 2011),具有维持 ESCs 多能性的作用。在小鼠 ESCs 中,由于缺少 cyclin D-Cdk4/6 复合物,G1 期向 S 期的转变主要由 cyclin E-Cdk2 信号通道调控。而 miR-291a-3p、miR-291b-3p、miR-294、miR-295 和 miR-302d 可以通过直接靶向 cyclin E-Cdk2 信号通道的抑制因子 p21、p130 (Rb12) 和 Lats2 来激活 cyclin E-Cdk2 通道(Wang et al, 2008)。另外一些研究则表明,在人类的 ESCs 中,如果将 miR-17-92 家族成员 miR-92b 下调,会导致细胞停留在 G1 期,而上调 miR-92b,则会促进细胞由 G1 期向 S 期转变。进一步的研究证明,miR-92b 是通过靶向 G1/S 关卡抑制因子 p57,来调节细胞周期进程的(Sengupta et al, 2009)。此外,相关的文献也证实 miR-372 可以靶向 G1/S 关卡限制因子 Cdkn1a, miR-195 能通过靶向 G2/M 关卡限制因子 WEE1,来调控 ESCs 的细胞周期进程(Qi et al, 2009)。

另外,miRNAs 可以通过与相关基因作用来维持 ESCs 的多能性,如 Marson et al (2008)证实 miR-290 家族的启动子受到胚胎干细胞内特异的转录因子 Nanog、Oct4、Sox2 的调控,并且可以稳定 Oct4 的表达,通过重新进行 DNA 甲基化而调节 ESCs 的干性维持。同样,miR-302-367 家族的启动子受 ESCs 内特异性的转录因子 Nanog、Otc3/4、Sox2 和 Rex1 的调控(Barroso-delJesus et al, 2008),不仅能与靶基因 cyclin D1 和 Cdk4 作用,调节 ESCs 的细胞周期进程(Card et al, 2008),而且可以与靶基因 NR2F2 (Rosa & Brivanlou, 2011)和 Lefty (Barroso-DelJesus et al, 2011)作用,对 ESCs 的早期分化产生抑制,从而维持其多能性。

### 2.2 miRNAs 控制 ESCs 分化

ESCs 在定向分化过程中会开启两个重要的程序,包括关闭胚胎干细胞的自我更新程序,以及激

活组织特异性的定向分化程序。最近研究发现, 将 *let-7* 导入 GDCR8 蛋白缺失的未分化的 ESCs 中, 可以有效抑制 ESCs 中的自我更新程序。同时, 这种抑制也可以被 ESCC miRNA 逆转, 表明 *let-7* 和 ESCC miRNA 之间是可以互动的。这就提供了一个能够支配细胞命运的机制。在进一步的研究中, 发现 *let-7* 能抑制 *c-Myc*、*Sall4*、*Lin28* 和下游靶基因 *Sox2*、*Oct4*、*Nanog* 的表达; 而将 *let-7* 导入野生型 ESCs 中, 则未能诱导 ESCs 的分化, 表明 ESCC miRNA 能拮抗 *Let-7* 的分化作用(Melton et al, 2010)。

除 *let-7* 以外, 还存在其他调控 ESCs 分化的 miRNAs, 如在小鼠 ESCs 中, *miR-200c*、*miR-203* 以及 *miR-183* 共同抑制多能性因子 *Sox2* 和 *Klf4*。当将这些 miRNAs 导入 ESCs 中时, 会降低 ESCs 的自我更新能力(Wellner et al, 2009)。还有研究表明, *miR-145* 在人类 ESCs 中会抑制 *Sox2*、*Oct4* 和 *Klf4* 的表达, 从而抑制 ESCs 的自我更新能力。当导入反义寡核苷酸抑制 miR-145 表达时, 人类 ESCs 就会恢复自我更新能力(Xu et al, 2009)。另外, *miR-371-3* 的表达与人类 ESCs 向神经细胞分化潜能则呈负相关。当将 *Klf4* 基因转导至神经细胞中提高 *miR-371-3* 的表达时, *Klf4* 转导的神经细胞显示出多能标记物表达的改变, 相反, 若在 *Klf4* 转导的神经细胞中抑制 *miR-371-3* 的表达, 则可恢复其神经性分化倾向。这些均表明, *miR-371-3* 有可能在人类多能干细胞神经性分化行为过程中发挥关键性作用(Kim et al, 2011)。最近, Boissart et al (2012)通过抑制人类 ESCs 中 TGF $\beta$  信号通道证明了 *miR-125* 的两亚型(*miR-125a* 和 *miR-125b*)参与了人类 ESCs 分化为神经细胞系的过程。功能分析表明, *miR-125* 通过靶向抑制核心信号转导分子 *SMAD4* 的表达, 从而促进了人类 ESCs 向神经前体细胞的转变。

有研究发现, miRNAs 还存在另一种控制胚胎干细胞种系分化决定过程的机制, 即某些组织特异性 miRNAs 能通过抑制或促进胚胎干细胞分化为特定的细胞系, 显示出 miRNAs 的网络调控能力, 如在心肌细胞发育过程中特异表达的 *miR-1* 和 *miR-133* 受到相同上游基因的调控; 但是它们在控制中胚层向心肌细胞分化过程中的作用却不一致(Ivey et al, 2008)。

### 3 miRNAs 与诱导多能干细胞

诱导多能干细胞(iPSCs)首先是由 Takahashi &

Yamanaka 在 2006 年利用转录因子 *Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 和 *Myc* 实现的, 虽然他们得到的细胞与真正的 ESCs 相比还存在着许多差异, 但是这一研究开创了利用少数几个因子来诱导 iPSCs 产生的先例(Takahashi & Yamanaka, 2006)。随后, Yu et al (2007)利用 *Oct4*、*Sox2*、*Nanog* 和 *Lin28* 诱导体细胞产生了 iPSCs, 其中 *Lin28* 会抑制少数 pri-miRNA 的成熟(Viswanathan et al, 2008), 这意味着, 胚胎干细胞特异性 miRNAs 可能适用于体细胞的重新编程。

近年来, 科学家开始尝试应用 miRNAs 与转录因子共同诱导体细胞重编程, 如 Judson et al (2009)利用逆转录病毒载体用不同的 miRNAs 和 *Oct4*、*Sox2*、*Klf4* 一起转染小鼠胚胎成纤维细胞, 发现重编程效率显著提高, 其中 *miR-294* 对重编程效率影响最大, 使 iPSCs 产生效率从 0.01%~0.05%提高到了 0.4%~0.7%。Lin et al (2011)利用诱导性 miR-302 表达系统研究 miR-302 表达量对重编程的影响时发现, 当 *miR-302* 在人类毛囊细胞(hHFCs)的表达量超过胚胎干细胞 H1 和 H9 亚型表达量的 1.3 倍时就可以诱导其重编程。*miR-302* 的靶基因包括 4 个遗传调控因子 *AOF2*、*AOF1*、*MECP1-p66* 和 *MECP2*, 沉默 *AOF2* 将导致 DNMT1 的失活并增强其去甲基化过程, 从而提高 hHFCs 重编程效率。近期 Liao et al (2011)通过把 *miR-106a-363* 家族、*miR-302-367* 家族和 3 个外源性因子(*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*)一起转染小鼠胚胎成纤维细胞可以显著提高 iPSCs 的产生效率。其中 *miR-302-367* 家族通过靶向 TGF $\beta$ -receptor 2 来促进 E-cadherin 的表达, 从而加速间充质向上皮转化(mesenchymal-to-epithelial transition, MET)。另外, *miR-93* 及其家族成员也可以通过抑制 TGF $\beta$ -receptor 2 加速 MET 过程, 进而提高诱导小鼠 iPSCs 形成的效率(Li et al, 2011)。上述研究结果均表明, ESCs 特异性 miRNAs 的表达能促进细胞重新编程。

有趣的是, 通过抑制组织特异性 miRNAs 表达也能促进 iPSCs 的形成。Rybak et al (2008)将 *let-7* 反义引物抑制剂和 *Sox2*、*Oct4*、*Klf4* 瞬时转染小鼠胚胎成纤维细胞后, 重编程效率提高了 4.3 倍。另外, 近年来发现, *p53* 信号途径对细胞重编程具有阻碍作用, 抑制或敲除 *p53* 可以促进细胞重编程效率(Banito et al, 2009; Kawamura et al, 2009)。Choi et al (2011)证实 *miR-34* 家族, 尤其是其成员 *miR-34a* 以 *p53* 依赖性方式参与了对体细胞重编程的调控。

不同于 *p53* 缺陷在提高重编程效率的同时导致生成的 iPSCs 丧失了多潜能性, *miR-34a* 基因敲除不仅可以促进小鼠体细胞重编程为 iPSCs, 且生成的 iPSCs 维持了自我更新或分化能力。进一步分析表明, *miR-34a* 有可能是通过负调控 *Nanog*、*Sox2* 和 *Mycn* 基因而发挥重编程抑制效应的。此外, 研究人员还证实 *miR-34* 家族的另外两个成员 *miR-34b* 和 *miR-34c* 也对体细胞重编程有抑制效应。

最近研究证明, miRNAs 具有直接诱导体细胞重编程的能力, 且其效率高于利用转录因子 *Sox2*、*Oct4*、*Klf4* 和 *Myc* 进行的体细胞重编程, 致瘤性低。Anokye-Danso et al (2011) 利用慢病毒载体导入 *miR-302b/302c/302a/302d/367* cluster 和丙戊酸, 成功将小鼠胚胎成纤维细胞以及人成纤维细胞重编程为 iPSCs, 这是科学家首次未使用 4 个转录因子制造出的 iPSCs。与之前诱导重编程方法相比, 这种新方法将重编程效率提高了 100 倍以上。有趣的是, 重编程鼠类细胞时丙戊酸是必须的, 但单独用 *miR-302/367* 就能有效地重编程人类细胞。组蛋白脱乙酰化酶(Hdac2)的作用可以部分解释产生这种差异的原因。有研究指出, Hdac2 的功能是细胞重编程的一个重要障碍, 而丙戊酸可以破坏 Hdac2。小鼠成纤维细胞中 Hdac2 的表达水平明显高于人类的成纤维细胞, 说明丙戊酸通过抑制 Hdac2 的功能而促进小鼠 iPSCs 的形成。另外, Miyoshi et al (2011) 对小鼠脂肪基质细胞(mASCs)中 miRNAs 表达图谱进行分析, 发现相对于 mASCs, 小鼠 ESCs 和 iPSCs 中 *mir-200c*、*mir-302* 家族及 *mir-369* 家族呈高水平表达。将这 3 个家族 miRNAs 导入到 mASCs 中后, 发现 mASCs 可以重编程为 iPSCs。同时, 这些

miRNAs 介导的 iPSCs 能够表达未分化 ESCs 的特征性基因。当研究人员将相同的 miRNAs 导入到人类脂肪基质细胞及皮肤纤维细胞中, 这些 miRNAs 同样能够诱导人类体细胞重编程为 iPSCs。此外, 直接转染成熟的双链 *miR-200c*、*miR-302* 家族及 *miR-369* 家族, 这在一定程度上减少了肿瘤发生的可能性和增强了安全性, 在临床治疗上会更加可靠。由此看来, 利用 miRNA 诱导 iPSCs 可能是一种理想的方法。

## 4 展望

miRNAs 的发现, 为我们研究生物体生长发育、分化调控以及 iPSCs 提供了强有力的工具和全新的研究思路。虽然对 miRNAs 的研究取得了较大进展 (Wang et al, 2012), 但仍然面临着很多问题。首先, miRNAs 的检测手段存在自身优点的同时也或多或少存在不足。高灵敏度、高通量、高特异性的检测技术将更好地推动 miRNAs 的发展。其次, 被证实的和明确功能的 miRNAs 的数量还很少, 其在各个生命活动中所扮演的角色尚未完全明了。寻找调控的 miRNAs 基因以及 miRNAs 的靶基因, 揭示 miRNAs 具体的作用机制尤为重要。再次, 考虑到临床应用的安全性和效率, 研究非介入型的 miRNA 载体和 (或) 直接的转染技术将成为研究者接下来要解决的重要任务之一。

随着研究的不断深入, 人们对 miRNAs 控制网络的认识必将越来越全面, 对其功能和作用机制的了解也将会更加透彻。我们可以相信, miRNAs 必将为生命科学的研究和生物医学的发展等方面带来更为深远的影响。

## 参考文献:

- Anokye-Danso F, Trivedi CM, Juhr D, Gupta M, Cui Z, Tian Y, Zhang YZ, Yang WL, Gruber PJ, Epstein JA, Morrissey EE. 2011. Highly efficient miRNA-mediated reprogramming of mouse and human somatic cells to pluripotency [J]. *Cell Stem Cell*, **8**(4): 376-388.
- Banito A, Rashid ST, Acosta JC, Li SD, Pereira CF, Geti I, Pinho S, Silva JC, Azuara V, Walsh M, Vallier L, Gil J. 2009. Senescence impairs successful reprogramming to pluripotent stem cells [J]. *Genes Dev*, **23**(18): 2134-2139.
- Barroso-delJesus A, Lucena-Aguilar G, Sanchez L, Ligerio G, Gutierrez-Aranda I, Menendez P. 2011. The Nodal inhibitor Lefty is negatively modulated by the microRNA miR-302 in human embryonic stem cells [J]. *FASEB J*, **25**(5): 1497-1508.
- Barroso-delJesus A, Romero-López C, Lucena-Aguilar G, Melen GJ, Sanchez L, Ligerio G, Berzal-Herranz A, Menendez P. 2008. Embryonic stem cell-specific miR302-367 cluster: human gene structure and functional characterization of its core promoter [J]. *Mol Cell Biol*, **28**(21): 6609-6619.
- Bartel DP. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, **116**(2): 281-297.
- Boissart C, Nissan X, Giraud-Triboulet K, Peschanski M, Benchoua A. 2012. miR-125 potentiates early neural specification of human embryonic stem cells [J]. *Development*, **139**(7): 1247-1257.
- Card DAG, Hebbar PB, Li LP, Trotter KW, Komatsu Y, Mishina Y, Archer TK. 2008. Oct4/Sox2-regulated miR-302 targets cyclin D1 in human embryonic stem cells [J]. *Mol Cell Biol*, **28**(20): 6426-6438.
- Chapin SC, Doyle PS. 2011. Ultrasensitive multiplexed microRNA quantification on encoded gel microparticles using rolling circle amplification [J]. *Anal Chem*, **83**(18): 7179-7185.
- Choi YJ, Lin CP, Ho JJ, He XY, Okada N, Bu PC, Zhong YC, Kim SY, Bennett MJ, Chen C, Ozturk A, Hicks GG, Hannon GJ, He L. 2011. miR-34 miRNAs provide a barrier for somatic cell reprogramming [J]. *Nat Cell Biol*, **13**(11): 1353-1260.

- Ghildiyal M, Zamore PD. 2009. Small silencing RNAs: an expanding universe [J]. *Nat Rev Genet*, **10**(2): 94-108.
- Harcourt EM, Kool ET. 2012. Amplified microRNA detection by templated chemistry [J]. *Nucleic Acids Res*, 1-8, doi: 10.1093/nar/gkr1313.
- Houbaviy HB, Murray MF, Sharp PA. 2003. Embryonic stem cell-specific MicroRNAs [J]. *Dev Cell*, **5**(2): 351-358.
- Huang L, Zhang R, Su B. 2008. A human-specific mutation leads to reduced interaction between miR-124a and one of its target genes, PLOD3 [J]. *Zool Res*, **29**(4): 363-367. [黄琳, 张锐, 宿兵. 2008. PLOD3 基因 3' 调控区的人类特异突变改变 miR-124a 对 PLOD3 的调控. *动物学研究*, **29**(4): 363-367.]
- Ivey KN, Muth A, Arnold J, King FW, Yeh RF, Fish JE, Hsiao EC, Schwartz RJ, Conklin BR, Bernstein HS, Srivastava D. 2008. MicroRNA regulation of cell lineages in mouse and human embryonic stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, **2**(3): 219-229.
- Judson RL, Babiarz JE, Venere M, Blueloch R. 2009. Embryonic stem cell-specific microRNAs promote induced pluripotency [J]. *Nat Biotechnol*, **27**(5): 459-461.
- Kawamura T, Suzuki J, Wang YV, Menendez S, Morera LB, Raya A, Wahl GM, Izpisua Belmonte JC. 2009. Linking the p53 tumour suppressor pathway to somatic cell reprogramming [J]. *Nature*, **460**(7259): 1140-1144.
- Kim H, Lee G, Ganat Y, Papapetrou EP, Lipchina I, Socci ND, Sadelain M, Studer L. 2011. miR-371-3 expression predicts neural differentiation propensity in human pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, **8**(6): 695-706.
- Kim VN. 2005. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **6**(5): 376-385.
- Li ZH, Yang CS, Nakashima K, Rana TM. 2011. Small RNA-mediated regulation of iPS cell generation [J]. *EMBO J*, **30**(5): 823-834.
- Liao BJ, Bao XC, Liu LQ, Feng SP, Zovoilis A, Liu WB, Xue YT, Cai J, Guo XP, Qin BM, Zhang RS, Wu JY, Lai LX, Teng MK, Niu LW, Zhang BL, Esteban MA, Pei DQ. 2011. MicroRNA cluster 302-367 enhances somatic cell reprogramming by accelerating a mesenchymal-to-epithelial transition [J]. *J Biol Chem*, **286**(19): 17359-17364.
- Lichner Z, Páll E, Kerekes A, Pállinger É, Maraghechi P, Posze Z, Góczy E. 2011. The miR-290-295 cluster promotes pluripotency maintenance by regulating cell cycle phase distribution in mouse embryonic stem cells [J]. *Differentiation*, **81**(1): 11-24.
- Lin SL, Chang DC, Lin CH, Ying SY, Leu D, Wu DTS. 2011. Regulation of somatic cell reprogramming through inducible mir-302 expression [J]. *Nucleic Acids Res*, **39**(3): 1054-1065.
- Marson A, Levine SS, Cole MF, Frampton GM, Brambrink T, Johnstone S, Guenther MG, Johnston WK, Wernig M, Newman J, Calabrese JM, Dennis LM, Volkert TL, Gupta S, Love J, Hannett N, Sharp PA, Bartel DP, Jaenisch R, Young RA. 2008. Connecting microRNA genes to the core transcriptional regulatory circuitry of embryonic stem cells [J]. *Cell*, **134**(3): 521-533.
- Melton C, Judson RL, Blueloch R. 2010. Opposing microRNA families regulate self-renewal in mouse embryonic stem cells [J]. *Nature*, **463**(7281): 621-626.
- Miyoshi N, Ishii H, Nagano H, Haraguchi N, Dewi DL, Kano Y, Nishikawa S, Tanemura M, Mimori K, Tanaka F, Saito T, Nishimura J, Takemasa I, Mizushima T, Ikeda M, Yamamoto H, Sekimoto M, Doki Y, Mori M. 2011. Reprogramming of mouse and human cells to pluripotency using mature microRNAs [J]. *Cell Stem Cell*, **8**(6): 633-638.
- Qi JL, Yu JY, Shcherbata HR, Mathieu J, Wang AJ, Seal S, Zhou WY, Stadler BM, Bourgin D, Wang LL, Nelson A, Ware C, Raymond C, Lim LP, Magnus J, Ivanovska I, Diaz R, Ball A, Cleary MA, Ruohola-Baker H. 2009. MicroRNAs regulate human embryonic stem cell division [J]. *Cell Cycle*, **8**(22): 3729-3741.
- Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL, Bradley A. 2004. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units [J]. *Genome Res*, **14**(10A): 1902-1910.
- Rosa A, Brivanlou AH. 2011. A regulatory circuitry comprised of miR-302 and the transcription factors OCT4 and NR2F2 regulates human embryonic stem cell differentiation [J]. *EMBO J*, **30**(2): 237-248.
- Rybak A, Fuchs H, Smirnova L, Brandt C, Pohl EE, Nitsch R, Wulczyn FG. 2008. A feedback loop comprising lin-28 and let-7 controls pre-let-7 maturation during neural stem-cell commitment [J]. *Nat Cell Biol*, **10**(8): 987-993.
- Schulte JH, Marschall T, Martin M, Rosenstiel P, Mestdagh P, Schlierf S, Thor T, Vandesompele J, Eggert A, Schreiber S, Rahmann S, Schramm A. 2010. Deep sequencing reveals differential expression of microRNAs in favorable versus unfavorable neuroblastoma [J]. *Nucleic Acids Res*, **38**(17): 5919-5928.
- Sengupta S, Nie J, Wagner RJ, Yang CH, Stewart R, Thomson JA. 2009. MicroRNA 92b controls the G1/S checkpoint gene p57 in human embryonic stem cells [J]. *Stem Cells*, **27**(7): 1524-1528.
- Takahashi K, Yamanaka S. 2006. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, **126**(4): 663-676.
- Tiscornia G, Izpisua Belmonte JC. 2010. MicroRNAs in embryonic stem cell function and fate [J]. *Genes Dev*, **24**(24): 2732-2741.
- Tolia NH, Joshua-Tor L. 2007. Slicer and the argonautes [J]. *Nat Chem Biol*, **3**(1): 36-43.
- Viswanathan SR, Daley GQ, Gregory RI. 2008. Selective blockade of microRNA processing by Lin28 [J]. *Science*, **320**(5872): 97-100.
- Wang K, Long B, Jiao JQ, Wang JX, Liu JP, Li Q, Li PF. 2012. miR-484 regulates mitochondrial network through targeting Fis1 [J]. *Nat Commun*, **3**: 781.
- Wang YM, Baskerville S, Shenoy A, Babiarz JE, Baehner L, Blueloch R. 2008. Embryonic stem cell-specific microRNAs regulate the G1-S transition and promote rapid proliferation [J]. *Nat Genet*, **40**(12): 1478-1483.
- Wellner U, Schubert J, Burk UC, Schmalhofer O, Zhu F, Sonntag A, Waldvogel B, Vannier C, Darling D, zur Hausen A, Brunton VG, Morton J, Sansom O, Schuler J, Stemmler MP, Herzberger C, Hopt U, Keck T, Brabletz S, Brabletz T. 2009. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, **11**(12): 1487-1495.
- Xu N, Papagiannakopoulos T, Pan GJ, Thomson JA, Kosik KS. 2009. MicroRNA-145 regulates OCT4, SOX2, and KLF4 and represses pluripotency in human embryonic stem cells [J]. *Cell*, **137**(4): 647-658.
- Yu JY, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian SL, Nie J, Jonsdottir GA, Ruotti V, Stewart R, Slukvin II, Thomson JA. 2007. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells [J]. *Science*, **318**(5858): 1917-1920.
- Zhang YQ, Wen JF. 2010. miRNA system in unicellular eukaryotes and its evolutionary implications [J]. *Zool Res*, **31**(1): 39-42. [张燕琼, 文建凡. 2010. 单细胞真核生物的 miRNA 系统及其进化意义. *动物学研究*, **31**(1): 39-42.]