

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.01545

microRNA 在胚胎干细胞中的表达及作用

王世华, 边春景, 赵春华

中国医学科学院中国协和医科大学基础所组织工程中心, 北京 100005

摘要: 胚胎干细胞是一类具有自我更新能力和多向分化潜能的细胞, 其自我更新和多向分化过程都在遗传和表观遗传的严格调控下进行的。越来越多的研究表明 microRNA 也在这一过程中发挥重要的作用。microRNA 是一类内源性的非编码 RNA, 能够通过和靶 mRNA 特异性的结合而导致靶 mRNA 降解或抑制其翻译, 从而对基因进行转录后调控。文章就 microRNA 在胚胎干细胞中的表达及其作用的研究进展做一综述。主要讨论一些在胚胎干细胞中特异性表达的 microRNA, 以及这些 microRNA 对胚胎干细胞自我更新和未分化状态的维持和继续分化增殖的调控作用。

关键词: 胚胎干细胞; microRNA; 分化

Expression and function of microRNA in embryonic stem cell

WANG Shi-Hua, BIAN Chun-Jing, ZHAO Chun-Hua

Center of Tissue Engineering, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Abstract: Embryonic stem cells are the cells that have the ability both to self-renew and to differentiate into all the mature cell types in an adult. Both of these processes are tightly regulated by genetic and epigenetic mechanisms. Increasing evidence indicates that a class of single-stranded non-coding RNA, known as "microRNAs", also plays a critical role in this process. MicroRNA can bind to target mRNAs by specific base pairing, then degrade mRNAs or inhibit protein translation. Therefore, they can participate in post-transcriptional regulation. Recently, scientists began to study the effect of microRNA on embryonic stem cell and found that some microRNAs are specifically expressed and form an intricate network of microRNAs, regulating key transcription factors and other genes. This review focuses on the expression of microRNA in embryonic stem cell and their functions. We discuss some microRNA that are specifically expressed in embryonic stem cell and their regulating effect on self-renewal and differentiation.

Keywords: embryonic stem cell; microRNA; differentiation

胚胎干细胞是最为原始的干细胞, 它来源于哺乳动物囊胚的内细胞团, 具有无限的自我更新能力, 同时, 这种细胞是多能(Pluripotent)干细胞, 能够分化成为三胚层中任何一种细胞类型。胚胎干细胞具有广泛的应用前景, 是当前生命科学研究领域的重要方面。胚胎干细胞的自我更新和多向分化都是在遗传和表观遗传的严格调控下进行的。越来越多的

证据表明, microRNA 在植物和动物体内参与调控干细胞特性^[1,2]。microRNAs 是一类内源性的非编码单链 RNA, 含 19~22 个核苷酸, 能够通过和靶 mRNA 特异性的结合而导致靶 mRNA 降解或抑制其翻译, 从而对基因进行转录后调控^[3]。

microRNAs 参与细胞生长、分化和凋亡, 在生物体发育和疾病过程中起重要的调控作用。通过

收稿日期: 2008-05-16; 修回日期: 2008-07-08

作者简介: 王世华(1981-), 女, 山东青岛人, 硕士研究生, 研究方向: 细胞生物学。Tel: 010-85348539; E-mail: wshawp@163.com

通讯作者: 赵春华(1965-), 男, 山东青岛人, 博士生导师, 博士, 研究方向: 细胞生物学。Tel: 010-65123207; E-mail: chunhua@public.tpt.tj.cn

microRNAs 在干细胞中的作用研究, 可进一步阐明干细胞自我更新及分化过程的内在机制。

1 microRNA 的生成和作用机制

microRNA 相应的基因来源于染色体非编码蛋白区的一段, 由 RNA 聚合酶 (RNAPol) 转录生成单顺反子或多顺反子初级转录物(Pri-miRNA), 其长度在 100~1 000 个核苷酸^[4]。Pri-miRNAs 通过时序性加工, 生成成熟的 miRNA。时序性加工一般分为两步: 第一步在核内, Drosha RNase 和 DGCB8 构成复合体将 Pri-miRNA 剪切成长度约 70 个核苷酸并具有茎环结构的 miRNA 前体(pre-miRNA)。Drosha 行使 RNA 核酸内切酶的功能, DGCB8 则能够直接结合 Pri-miRNA, 稳定发夹结构, 指导 Drosha 的定向剪切^[5,6]。Pre-miRNA 在 GTP 依赖的核质/细胞质转运蛋白 Exportin5 的作用下, 从细胞核运送到细胞质中^[7]; 第二步在胞质, Dicer 将具有茎环结构的前体剪切成 19~22 个核苷酸长的 miRNA: miRNA' 双体。Dicer 是 RNase 超家族中一员, 是一种 ATP 依赖的核酸内切酶^[8,9]。

miRNA: miRNA' 双体中一条链被降解, 另一条成熟的 miRNA 进入 RNA 诱导的基因沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 中, 形成非对称 RISC 复合物^[10]。该复合物会结合到靶 mRNA 的 3' 非翻译区(UTR), 阻断靶基因的翻译。大多数情况下, 成熟的 miRNA 和靶 mRNA 序列不完全互补^[11]。哪一条链结合到 RISC 并不是完全随机的。在 miRNA 和互补链形成的双螺旋中, 两条链的 3' 端均有 2 个游离核苷酸, 并且两条链也不完全配对。miRNA 靠近 5' 端有一个与互补链不匹配的突起, 这个突起显著的减弱了双链结构 5' 端稳定性。成熟 miRNA 的产生, 总是趋向于选择双链中 5' 端相对更不稳定的序列, 所以只有一条成熟的 miRNA 最终能结合到 RISC 中^[12]。miRNA 参与基因调控主要有两种方式, 即靶 mRNA 的降解和翻译抑制^[13]。当 miRNA 和靶 mRNA 接近完全互补时多采取第一种方式, 在植物中多见。而在动物中, 多数情况下 miRNA 和靶 mRNA 3' 非翻译区不完全互补配, 通过翻译抑制靶 mRNA 的表达。microRNA 生成和作用的示意图见图 1^[14]。

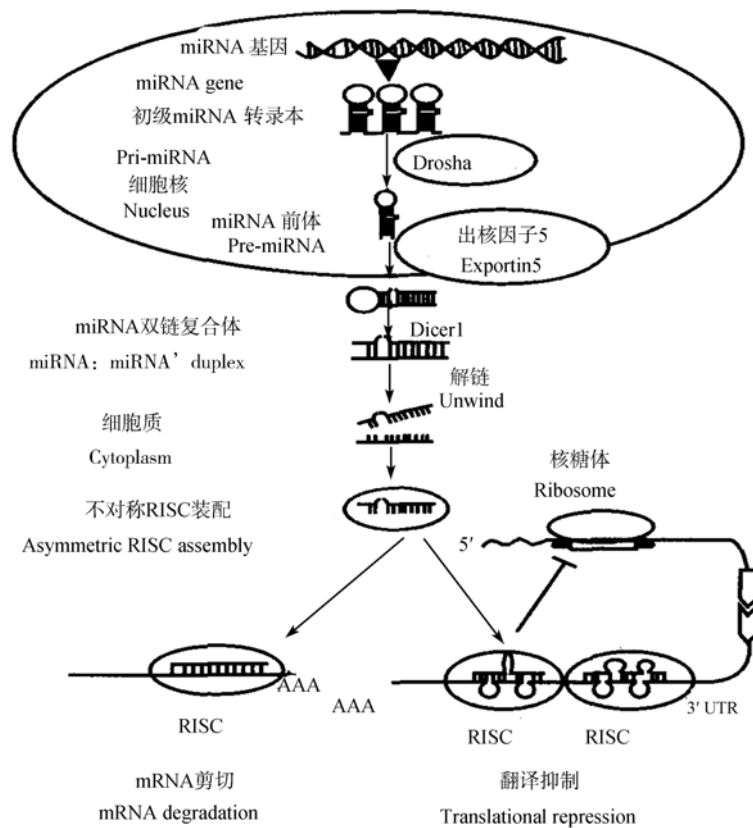


图 1 microRNA 的生成和作用机制

Fig. 1 microRNA biogenesis and two mechanisms involved in gene expression

2 microRNA 在胚胎干细胞中的表达

目前已经从哺乳动物细胞系和器官中克隆出数百个 microRNAs, 其中一些 microRNAs 与干细胞类型相关或在干细胞分化过程中发生变化。研究报道指出一些 microRNAs 在胚胎干细胞中特异性表达, 并且随着胚胎干细胞的分化, microRNAs 表达谱也发生 microRNAs 进行检测, 发现三者部分重叠, 即明显变化。最早是 Houbaviy 等^[15]对小鼠未分化和已分化的胚胎干细胞以及成体细胞中所含的 miRNAs 是三者共有, 有的是细胞类型特异性的。如有 6 个(miR290、miR291、292、293、294、295)在胚胎干细胞中高表达, 在类胚体中低表达, 在 MEF/NIH3T3 中不表达。这 6 个 microRNA 成簇排列, 位于小鼠基因组中一段 2.2 kb 的区域。它们属于新发现的 miRNAs, 先前未经报道。在 ES 细胞分化过程中, 这几个 miRNAs 表达下调或不表达。从 EST 数据库搜寻含有这 6 个 microRNA 前体的 2.2 kb 的片段, 发现其在植入前的胚胎或胚胎干细胞中存在, 进一步提示这些 miRNAs 是胚胎干细胞特异性的。此外, 还发现 miR29a、29b、193、199 在 MEF/NIH3T3 中表达, 在胚胎干细胞和类胚体中不表达, miR296 只在胚胎干细胞中表达, miR21、miR22 在已经发生自发性分化的胚胎干细胞中表达^[15]。

在类似的研究中, Suh 等^[16]从人胚胎干细胞中分离出至少 36 个 miRNA, 这些 miRNA 大部分都在人胚胎干细胞中特异性表达, 而在已经分化的胚胎细胞或成体组织中不表达。这 36 个 miRNA 中有 17 个是首次报道, 有 3 个(miR-296、miR-301、miR-302)与 Houbaviy 等^[15]报道的相似。1 个 miRNA(miR-302)是小鼠胚胎干细胞、人胚胎干细胞和人胚胎肉瘤细胞所特有的^[15]。有趣的是, 一些 miRNA 基因在染色体上是成簇排列, 共同转录成多顺反子^[16]。例如: 8 个 miRNA(miR302、302b*、302c、302c*、302a、302a*、302d、367)位于四号染色体上一个 700 bp 的区域^[15]; 4 个 miRNA(miR-371、372、373、373*)在 19 号染色体上一个 1 050 bp 的区域内成簇排列^[16]。并且, 一些胚胎干细胞特异性 microRNA 在哺乳动物基因组中具有保守性^[15、16]。

此后, 又有一系列研究寻找胚胎干细胞中特异性的 miRNAs^[17-19]。Morin 等^[17]采用通量平行测序的方法, 对人胚胎干细胞和类胚体的 RNA 比较, 发现 171 个已知 miRNAs 和 23 个新发现的 miRNAs 在两者之间呈现明显差异。Laurent 等^[18]采用新的

microRNA 芯片平台, 对人胚胎干细胞和多种干细胞及分化细胞的 microRNA 表达谱进行研究, 发现一组特异性调控 hESCs 的 microRNA, 这些 microRNA 多位于较大的基因簇中, 很少位于编码基因的内含子, 同时许多在 hESCs 中上调的 microRNA 序列具有一致性, 提示它们协同作用于一组目的 mRNAs。

虽然这些研究采用的方法不同, 但它们均提示胚胎干细胞中存在一系列特异性表达的 microRNAs, 这些 microRNAs 可能参与维持胚胎干细胞的自我更新及多向分化。当然, 其潜在的机制尚待探讨。

3 microRNA 在胚胎干细胞中的作用

研究表明, 表观遗传的动态调控在胚胎干细胞的自我更新和分化过程中扮演着非常重要的角色。胚胎干细胞中与自我更新和分化相关的基因表达的启动和维持过程受一系列独特的表观遗传历程的调控, 包括: DNA 的甲基化、组蛋白修饰(包括甲基化、乙酰化、磷酸化和泛素化)^[20]。近年来, microRNA 表观遗传调控的基因表达在干细胞生物学领域中正成为一个新兴的研究热点。microRNA 与这些表观遗传调控方式相互作用, 在多个层面(microRNA 作为一种新近发现的小分子 RNA, 其在生物体内的作用越来越被人们所重视。miRNA 可参与生命过程中的一系列重要进程, 包括早期胚胎发育、细胞增殖、细胞凋亡、脂肪代谢等。同时, 编码 microRNA 的基因本身也会受到 DNA 的甲基化、组蛋白修饰以及其他 microRNA 的调控, 它们之间形成一个复杂的网络。目前, 我们对这一方面的理解还处于探索阶段。microRNA 作为一种新近发现的小分子 RNA, 其在生物体内的作用越来越被人们所重视。实验数据表明 miRNA 在植物和动物体内调控干细胞特性^[15], 对于干细胞的自我更新和未分化状态的维持具有重要意义, 对干细胞的继续分化增殖也具有显著的调控作用。在干细胞分化进程中, miRNAs 可下调细胞内维持干细胞未分化状态的某些基因, 同时激活干细胞谱系特异性基因, 促进干细胞的定向分化。此外, 一些 miRNA 在干细胞中差异性表达, 也提示它们在干细胞中具有特殊的调控作用^[16]。目前对 miRNA 功能研究主要是通过缺失 miRNA 生物合成过程中重要的酶和蛋白来进行的。

3.1 Dicer 敲除对胚胎干细胞的作用

Dicer 是 RNase 超家族中一员, 参与 miRNA

的生物合成。因为组成性缺失 Dicer 会引起胚胎死亡, 所以条件性缺失 Dicer 可以更好的研究 miRNA 在胚胎干细胞中的作用。Kanellopoulou 等^[211]成功构建了 Dicer 条件性缺失的小鼠胚胎干细胞。这种胚胎干细胞中 miRNA 前体聚集, 但不能被加工为成熟的 miRNAs。形态上, 这种胚胎干细胞与野生型相同, 但它们增殖速度减慢, 并且不能分化成类胚体。在诱导分化 5 d 的体系中, 这种细胞内胚层(Hnf4)和外胚层分化标志(Brachyury, Bmp4, Gata1)缺失, 而全能性标志物 Oct4 表达升高, 与野生型胚胎干细胞的表现相反^[211], 显示出分化受阻。此外, Dicer 缺陷的胚胎干细胞, DNA 甲基化和组蛋白修饰也发生改变, 提示 Dicer 以及它所合成的 miRNAs 参与维持异染色质的结构^[211]。当 Dicer 重新激活后, 分化表型可随之恢复^[211], 这充分说明 miRNA 在胚胎干细胞分化中的作用。

另外, Murchison 等^[222]发现, Dicer 缺陷的胚胎干细胞增殖缓慢, 而且这些胚胎干细胞中 G₁ 和 G₀ 期增加, 提示一些 miRNA 参与细胞周期的调控。但随时间推移, 其表型会逐渐恢复正常。他们认为这种恢复是二次突变的结果, 细胞重新获得了生成成熟 miRNA 的能力^[222]。Sinkkonen1 等^[231]发现 Dicer 缺失的小鼠胚胎干细胞中 ES 特异性的 miR-290 簇对未分化的 ES 细胞具有重要的调控作用。同时, 由于 Dicer 缺失引起的细胞缺陷可以通过转染 miR-290 家族来逆转。异常的甲基化也可通过 miR-290 家族来纠正, 提示胚胎干细胞中 miRNA 参与 DNA 甲基化。

3.2 DGCR8 敲除对胚胎干细胞的作用

DGCR8 是双链 DNA 结合蛋白, 是 miRNA 生成必需的。Wang 等^[24]构建了 DGCR8 敲除的胚胎干细胞, 这种细胞与 Dicer 缺陷的胚胎干细胞具有相似的表型, 细胞处于 G₁ 期阻滞, 分裂时间较野生型延长。虽然细胞形态正常, 表达胚胎干细胞特异性的标志物, 但它们不能形成类胚体, 且分化标志物(FGF5, Hnf4, Sox1)表达异常。DGCR8 重新表达, 可以恢复胚胎干细胞的表型, 提示 miRNA 是参与调控干细胞特性的重要因子。与 Dicer 缺陷的胚胎干细胞不同的是, DGCR8 敲除的胚胎干细胞表现出更为稳定地缺陷表型, 且不随时间而改变^[24], 其机制尚不清楚。

3.3 某些 microRNA 在胚胎干细胞向神经分化中的作用

虽然 microRNA 的研究目前还处于探索阶段, 没有深入细化, miRNAs 调控干细胞分化方向的详细

机制还不明确, 但多种 miRNAs 分子参与胚胎干细胞定向分化已经得到公认, 并且已有实验开始对特定的 microRNA 进行研究。因为将胚胎干细胞分化为神经细胞对于一些中枢神经系统疾病的治疗具有重要的指导意义, 所以这方面的研究也比较多, 本文主要集中在 miRNAs 分子在胚胎干细胞向神经分化过程中的作用研究。

最初是 Lee 等^[25]发现小鼠胚胎干细胞在体外诱导分化为神经细胞的过程中, microRNA 表达谱表达谱发生变化, 如 miR-125b 诱导 20 d 后表达明显增多, let-7 在诱导 20 d 时刚刚能检测到, 但到 60 d 时明显增多, 这种随时间变化的模式与线虫中相似^[26]。与 microRNA 不同, 其靶基因 lin-41、lin-28 表达却逐渐减少, 提示这两种 miRNAs 在胚胎干细胞分化为神经细胞时起着显著的调控作用^[27]。

Tay 等^[27]发现小鼠胚胎干细胞在视黄酸诱导下第 4 d 高表达 miR-134, 在 N2B27 诱导下第 2 d 高表达 miR-134, 单独上调 miR-134 的表达, 可以促进小鼠胚胎干细胞向外胚层分化, 且这一作用可被 miR-134 的抑制剂阻断。此外, 还发现 miR-134 对胚胎干细胞分化的促进作用, 部分是通过抑制 Nanog 和 LRH1 的表达来实现的^[25]。已知 Nanog 和 LRH1 是 Oct4/POU5F1 的正向调控因子。

还有研究表明两种 miRNA(miR-124a 和 miR-9) 在胚胎干细胞诱导分化为神经细胞过程中起作用, 它们可以改变神经元和胶质细胞的比例, 这些 miRNA 与转录因子 STAT 共同作用^[28,29]。

4 结语

胚胎干细胞和 microRNA 是目前生物研究领域中的两个前沿, 具有重要意义, 一个代表基本的生物学问题, 另一个则提供机制。将这两个前沿结合起来, 即研究 microRNA 在胚胎干细胞中的作用, 将有助于我们更好的理解胚胎干细胞的生物学特性。越来越多的研究表明 microRNA 在植物和动物体内参与调控干细胞特性。同时, 这些研究也提出了新的问题, 胚胎干细胞中有多少特异性表达的 microRNA? 是否可以用 microRNAs 作为胚胎干细胞的标志? microRNA 是通过调控哪些靶基因, 怎样调控来影响胚胎干细胞的生物学特性? 胚胎干细胞特异性的 miRNA 是否通过与胚胎干细胞特异性的转录因子共同作用来调控干细胞的自我更新和分化? 如何通过改变 microRNA 表达谱来定向诱导胚胎干细胞? 对这些问题的探索有助于进一步阐明胚

胎干细胞自我更新和分化的调控网络, 从而为应用胚胎干细胞打下基础。

参考文献(References):

- [1] Stadler BM, Ruohola-Baker H. Small RNAs: keeping stem cells in line. *Cell*, 2008, 132(4): 563–566.[\[DOI\]](#)
- [2] Singh SK, Kagalwala MN, Parker-Thornburg J, Adams H, Majumder S. REST maintains self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells. *Nature*, 2008, 453(7192): 223–227.[\[DOI\]](#)
- [3] Eulalio A, Huntzinger E, Izaurralde E. Getting to the root of miRNA-mediated gene silencing. *Cell*, 2008, 132(1): 9–14.[\[DOI\]](#)
- [4] Ruby JG, Jan CH, Bartel DP. Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature*, 2007, 448 (7149): 83–86. [\[DOI\]](#)
- [5] Han J, Lee Y, Yeom KH, Nam JW, Heo I, Rhee JK, Sohn SY, Cho Y, Zhang BT, Kim VN. Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha -DGCR8 complex. *Cell*, 2006, 125(5): 887–901.
- [6] Du Z, Lee JK, Tjhen R, Stroud RM, James TL. Structural and biochemical insights into the dicing mechanism of mouse Dicer: a conserved lysine is critical for dsRNA cleavage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(7): 2391–2396.[\[DOI\]](#)
- [7] Murphy D, Dancis B, Brown JR. The evolution of core proteins involved in microRNA biogenesis. *BMC Evol Biol*, 2008, 8: 92.[\[DOI\]](#)
- [8] Liu X, Park JK, Jiang F, Liu Y, McKearin D, Liu Q. Dicer-1, but not Loquacious, is critical for assembly of miRNA -induced silencing complexes. *RNA*, 13(12): 2324–2329.
- [9] Diederichs S, Haber DA. Dual role for argonautes in microRNA processing and posttranscriptional regulation of microRNA expression. *Cell*, 2007, 131(6): 1097–1098.[\[DOI\]](#)
- [10] Lee Y, Hur I, Park SY, Kim YK, Suh MR, Kim VN. The role of PACT in the RNA silencing pathway. *EMBO J*, 2006, 25(3): 522–532.[\[DOI\]](#)
- [11] Chendrimada TP, Finn KJ, Ji X, Baillat D, Gregory RI, Liebhaber SA, Pasquinelli AE, Shiekhattar R. MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature*, 2007, 447(7146): 823–828.[\[DOI\]](#)
- [12] MacRae IJ, Ma E, Zhou M, Robinson CV, Doudna JA. *In vitro* reconstitution of the human RISC-loading complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(2): 512–517.[\[DOI\]](#)
- [13] Liu X, Fortin K, Mourelatos Z. MicroRNAs: biogenesis and molecular functions. *Brain Pathol*, 2008, 18(1): 113–121.[\[DOI\]](#)
- [14] BIAN Chun-Jing, LIU Tie-Gang, LIU Xia, SHAO Rong-Guang. Functions of microRNAs in animals. *J Med Mol Biol*, 2005, 2(5): 359–362.
边春景, 刘铁刚, 刘霞, 邵荣光. microRNAs 在动物体内的功能. *医学分子生物学杂志*, 2005, 2(5): 359–362.
- [15] Houbaviy HB, Murray MF, Sharp PA. Embryonic stem cell-specific microRNA. *Dev Cell*, 2003, 5(2): 351–358.[\[DOI\]](#)
- [16] Suh MR, Lee Y, Kim JY, Kim SK, Moon SH, Lee JY, Cha KY, Chung HM, Yoon HS, Moon SY, Kim VN, Kim KS. Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs. *Dev Biol*, 2004, 270(2): 488–498.[\[DOI\]](#)
- [17] Morin RD, O'Connor MD, Griffith M, Kuchenbauer F, Delaney A, Prabhu AL, Zhao Y, McDonald H, Zeng T, Hirst M, Eaves CJ, Marra MA. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells. *Genome Res*, 2008, 18(4): 610–621.[\[DOI\]](#)
- [18] Laurent LC, Chen J, Ulitsky I, Mueller FJ, Lu C, Shamir R, Fan JB, Loring JF. Comprehensive microRNA profiling reveals a unique human embryonic stem cell signature dominated by a single seed sequence. *Stem Cells*, 2008, 26(6): 1506–1516.[\[DOI\]](#)
- [19] Lakshmipathy U, Love B, Goff LA, Jornsten R, Graichen R, Hart RP, Chesnut JD. MicroRNA expression pattern of undifferentiated and differentiated human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev*, 2007, 16(6): 1003–1016.[\[DOI\]](#)
- [20] Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*, 2003, 33(Suppl.): 245–254.[\[DOI\]](#)
- [21] Kanellopoulou C, Muljo SA, Kung AL, Ganesan S, Drapkin R, Jenuwein T, Livingston DM, Rajewsky K. Dicer-deficient mouse embryonic stem cells are defective in differentiation and centromeric silencing. *Genes Dev*, 2005, 19(4): 489–501.[\[DOI\]](#)
- [22] Murchison EP, Partridge JF, Tam OH, Cheloufi S, Hannon GJ. Characterization of Dicer-deficient murine embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(34): 12135–12140.[\[DOI\]](#)
- [23] Sinkkonen L, Hugenschmidt T, Berninger P, Gaidatzis D, Mohn F, Artus-Revel CG, Zavolan M, Svoboda P, Filipowicz W. MicroRNAs control *de novo* DNA methylation through regulation of transcriptional repressors in mouse embryonic stem cells. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15(3): 259–267.[\[DOI\]](#)
- [24] Wang Y, Medvid R, Melton C, Jaenisch R, Blelloch R. DGCR8 is essential for microRNA biogenesis and silencing of embryonic stem cell self-renewal. *Nat Genet*, 2007, 39(3): 380–385.[\[DOI\]](#)
- [25] Lee YS, Kim HK, Chung S, Kim KS, Dutta A. Depletion of human micro-RNA miR-125b reveals that it is critical for the proliferation of differentiated cells but not for the down-regulation of putative targets during differentiation. *J Biol Chem*, 2005, 280(17): 16635–16641.
- [26] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2000, 403(6772): 901–906.[\[DOI\]](#)
- [27] Tay YM, Tam WL, Ang YS, Gaughwin PM, Yang H, Wang W, Liu R, George J, Ng HH, Perera RJ, Lufkin T, Rigoutsos I, Thomson AM, Lim B. MicroRNA-134 modulates the differentiation of mouse embryonic stem cells, where it causes post-transcriptional attenuation of Nanog and LHR1. *Stem Cells*, 2008, 26(1): 17–29.[\[DOI\]](#)
- [28] Krichevsky AM, Sonntag KC, Isacson O, Kosik KS. Specific microRNAs modulate embryonic stem cell-derived neurogenesis. *Stem Cells*, 2006, 24(4): 857–864.[\[DOI\]](#)
- [29] Smirnova L, Grafe A, Seiler A, Schumacher S, Nitsch R, Wulczyn FG. Regulation of miRNA expression during neural cell specification. *Eur J Neurosci*, 2005, 21(6): 1469–1477.