Research on Medicine *Original Article*

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Vol.41; No.3; 2017

Increasing the specific expression of Cdk9 gene by single-stranded adult microRNA-1 in fibroblast cells

Zohre Bolandi, Hosein Ghanbarian*

Department of Biotechnology, Faculty of New Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

(Received: 2017/06/11 Accept: 2017/07/11)

Abstract

***Background**: MicroRNAs (miRNAs) are endogenous, non-coding short RNAs (~22 nucleotides) that can downregulate gene expression by repression of translation, mRNA degradation, or transcriptional repression. miRNA misregulation has been implicated in pathogenic alterations such as cancer. In order to investigate the microRNA functions in gene regulation and/or to modulate their expression in pathogenic conditions, microRNAs are overexpressed by using plasmid or synthetic RNA duplexes designed to mimic the miRNA of interest.*

***Materials and Methods:** Mouse fibroblast cells were cultured in DMEM containing 10% FBS, 100 U/ml penicillin, and 0.1 mg/ml streptomycin. Lipofectamine 2000 reagent (Invitrogen, 11668-027) was used for transfection according to the manufacturer's instructions. RNA was extracted from cells and tissues using Qiazol (Qiagen, Germany), according to the manufacturer's protocol. 2 µg RNA samples were reverse transcribed to cDNA using microRNA-1 specific stem loop and random hexamer primers and MLV reverse transcriptase. q-PCR was performed with the 'SYBR Green I Master Mix' kit.*

***Findings:** miR-1 expressing plasmid (pPRO-miR-1) was transfected into fibroblast cells. Quantitative real time PCR determination showed that Cdk9 expression was inhibited in transfected cells compared to control. Similarly, downregulation of Cdk9 was also observed following transfection of 22 nucleotides mature double stranded miR-1. Interestingly, transfection of synthetic 22 nucleotides mature single stranded miR-1 (miR-1-3p) induced Cdk9 expression in the fibroblast cells.*

***Conclusion:** Unlike miR-expressing vector or synthetic RNA duplexes designed to mimic the miRNA of interest that can downregulate gene expression, synthetic 22 nucleotides mature single stranded microRNA probably induces gene expression in a locus-specific manner.*

***Keywords:** microRNA-1, Cdk9, locus-specific induction*

**Corresponding author: Hosein Ghanbarian*
Email: hghanbarian@sbmu.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]

پژوهش در پزشکی

فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی

مقاله پژوهشی

دوره ۴۱، شماره ۳، ۱۳۹۶، صفحات ۱۵۳ تا ۱۵۹

افزایش بیان اختصاصی ژن Cdk9 بوسیله microRNA-1 بالغ تک رشته در سلول های فیبروبلاست

زهره بلندی، حسین قنبریان*

گروه بیوتکنولوژی، دانشکده فناوریهای نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۰۳/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۴/۲۰

چکیده:

سابقه و هدف: *microRNA ها، RNA کوچک (۲۲ بازی) غیر کد شونده هستند که قادرند بیان ژنها را از مسیرهای جلوگیری از ترجمه، رونویسی و تخریب RNA مهار کنند. با وجود نقش تنظیمی miR ها در شرایط فیزیولوژیک، تغییر بیان microRNA ها در شرایط بیماری مانند سرطان مشاهده می شود. بنابرین به منظور تنظیم میزان بیان miRها در شرایط بیماری و یا جهت مطالعه نقش تنظیمی آنها، بیان microRNA ها را با استفاده از وکتور های بیان کننده و یا از طریق سنتز miR بالغ دو رشته‌ای افزایش می‌دهند.*

مواد و روش بررسی: *در این مطالعه تجربی تاثیر تنظیمی miR-1 تک رشته ای و دو رشته ای بر بیان ژن Cdk9 بررسی شد. سلول های فیبروبلاست موشی در محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد سرم، 100 U/ml پنی سیلین، و 0.1 mg/ml استرپتومایسین کشت داده شدند. به منظور افزایش بیان miR-1 در سلول های فیبروبلاست، پلاسمید بیان کننده miR-1 (pPRO-miR-1)، miR-1 سنتزی دو رشته ای و تک رشته ای (۳ گروه) با استفاده از لیپوفکتامین ۲۰۰۰ (Invitrogen, 11668-027) و طبق پروتکل های موجود به سلول ها ترانسفکت شده و RNA سلول ها بعد از ۴۸ ساعت بوسیله محلول کیازول (Qiagen, Germany) استخراج گردید. cDNA سازی از 2 µg RNA در حضور آنزیم MLV ریورس ترنسکریپتاز و پرایمرهای Random hexamer و پرایمر اختصاصی microRNA-1 (شرکت زیست رویش) انجام شد. جهت انجام q-PCR از کیت SYBR Green I Master Mix استفاده شد. جهت بررسی اختلاف بین گروه ها از آزمون واریانس ANOVA استفاده شد و سطح اختلاف معناداری بین گروه ها (p value) کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.*

یافته‌ها: *پس از ترنسفکت سلول ها با پلاسمید بیان کننده miR-1 (pPRO-miR-1)، کاهش ۲ برابر بیان ژن Cdk9 در سلول های ترنسفکت شده نسبت به گروه کنترل با انجام آزمایش Real time PCR نشان داده شد (p< ۰/۰۱). نتایج مشابهی بعد از ترنسفکت سلول ها با miR-1 بالغ دو رشته ای (۲۲ نوکلئوتید) مشاهده شد. در ادامه با هدف مقایسه نقش تنظیمی miR-1 بالغ دورشته با تک رشته، سلول ها با miR-1 بالغ تک رشته (۲۲ نوکلئوتید) ترنسفکت شدند. نتایج حاصل از آزمایش q-PCR و وسترن بلات نشان داد که miR-1 بالغ تک رشته برخلاف miR-1 دورشته و یا پلاسمید بیان کننده miR، حدود ۲ برابر میزان بیان Cdk9 افزایش می دهند (p< ۰/۰۰۱).*

نتیجه‌گیری: *بر خلاف پلاسمید بیان کننده microRNA و miR بالغ دو رشته ای که باعث کاهش بیان ژن هدف می شوند، احتمال دارد microRNA تک رشته نقش فعال کننده بیان ژن هدف را داشته باشد.*

واژگان کلیدی: *microRNA-1، ژن Cdk9، افزایش بیان اختصاصی*

* **نویسنده مسئول:** حسین قنبریان

پست الکترونیک: *hghanbarian@sbmu.ac.ir*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]

مقدمه:

miRNA ها ملکول‌های RNA غیر کد شونده کوچک ۲۲ نوکلئوتیدی هستند که با اتصال به ناحیه ۳' mRNA هدف، نقش تنظیمی خود را ایفا می کنند. این مولکول های کوچک برای اولین بار توسط Lee و همکارانشان در *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) در سال ۱۹۹۳ شناسایی شدند (۱). از سال ۱۹۹۳ به بعد، microRNA ها در بسیاری از موجودات از جمله گیاهان، ویروس، جلبک ها و جانوران شناسایی شدند (۲).

بسیاری از miRNA ها در پستانداران در زمان خاصی از تکامل و همچنین در بافت مشخصی بیان می شوند (۳, ۴). به عنوان مثال،miR-1 فقط در قلب وعضلات اسکلتی بیان می شود و با تنظیم بیان ژن *Cdk9* و سایر ژنهای کلیدی قلب، در تکامل و تمایز سلول های قلبی دخالت دارند (۵). تحقیقات متعددی نشان داده است که بسیاری از مسیرها و فرایندهای سلولی از قبیل تکامل، تکثیر، مرگ سلولی، مسیرهای متابولیک و غیره توسط microRNAها کنترل می‌شوند (۶-۱۲).

microRNA ها بصورت یک رشته RNA بلند (pri-miRNAs) بوسیله آنزیم RNA پلیمراز II در داخل هسته رونویسی می شوند. RNA اولیه رونویسی شده توسط آنزیم های *Drosha* (RNASEN) و*DGCR8* در داخل هسته بریده شده و شکل سنجاق سری (hairpin) پیدا می کنند. این RNA که pre-miRNA نامیده می‌شود به اندازه ۷۰-۸۰ نوکلئوتید است (۱۳, ۱۴). Pre-miRNA به داخل سیتوپلاسم منتقل شده و نهایتا توسط آنزیم *Dicer* بریده شده و به شکل RNA دو رشته ای ۲۲ نوکلئوتید در می آید که microRNA بالغ نامیده می شود (۱۵-۱۹). microRNA بالغ دو رشته ای در ادامه وارد کمپلکس RISC شده و در مسیر حرکت به سمت RNA های هدف، یکی از رشته های miR از کمپلکس جدا شده و تخریب می شود. ولی رشته دیگر به ناحیه RNA۳' های هدف متصل شده و روند ترجمه RNA به پروتئین را مهار می کند (۲۰-۲۲).

مطالعات مختلف نشان داده است که بیان microRNA ها ممکن است در شرایط بیماری تغییر کند. بنابرین برخی مواقع جهت جلوگیری از روند بیماری، نیاز است تا میزان بیان microRNA ها را افزایش دهیم. بدین منظور معمولا microRNA ها را یا به شکلRNA بالغ دو رشته ای و یا با استفاده از وکتور های بیان کننده microRNA به داخل سلول یا بدن موجودات هدایت می کنند. در اینجا، miR-1 به شکل های بالغ تک رشته، دو رشته و با استفاده از وکتور به داخل سلول های فیبروبلاست منتقل شده و میزان مهار بیان ژن هدف *Cdk9* در روش های مختلف انتقال مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها:

این پژوهش تجربی-آزمایشگاهی در آزمایشگاه گروه بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای Real time PCR

Gene	Sequence 5'-3'
Cdk9	F: TAAAGCCAAGCACCGTCAG
	R: GATTTCCCTCAAGGCTGTGAT
Gapdh	F: CTCTCTGCTCCTCCTGTTCG
	R:ACGACCAAATCCGTTGACC

کشت سلول

سلول های فیبروبلاست جنین ۱۲/۵ روزه موش از مرکز تحقیقات بن یاخته تهیه شد. سلول ها در محیط DMEM حاوی ۱۰ درصد FBS (Gibco)، ۱۰۰U/ml پنی سیلیسن و ۰/۱ mg/ml استرپتومایسین کشت داده شدند. محیط کشت سلول ها به طور معمول یک روز درمیان تعویض شد. جهت انتقال وکتور بیان کننده miR-1 و یا miR-1 بالغ به داخل سلول از لیپوفکتامین ۲۰۰۰ (Invitrogen) و طبق پروتکل مربوطه استفاده شد.

وکتور بیان کننده pPRO-miR-1

وکتور بیان کننده pPRO-miR-1 از دانشگاه Sophia Antipolis فرانسه از آزمایشگاه دکتر رسول زادگان تهیه شد. ژن miR-1 تحت پروموتر ژن Protamin بیان می شود (۵).

استخراج RNA و انجام Real time PCR

۴۸ ساعت پس از انتقال microRNA به داخل سلول، RNA کامل با استفاده از محلول کیازول (Qiagen, Germany) از سلول های ترنسفکت شده و کنترل استخراج شد. cDNA سازی با 2µg RNA و بوسیله آنزیم PrimeScript^{TM} RT) MLV reverse transcriptase (Reagent Kit, RR037Q, TaKaRa) انجام شد. در این راستا جهت cDNA سازی ژن *Cdk9*، از پرایمرهای random hexamer و از کیت اختصاصی miR-1 (شرکت دانش بنیان زیست رویش، تهران، ایران) برای cDNA سازی miR-1 استفاده شد. q-PCR با استفاده از کیت 'SYBR Green I Master Mix' (RR820L, TaKaRa) بوسیله دستگاه Rotor-Gene 6000 (Corbett, Australia) انجام شد. جهت نرمالیزه کردن بیان ژن Cdk9 و miR-1 بترتیب از ژن Gapdh و Snord RNA 47 به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. توالی مربوط به پرایمرها در جدول نشان داده شده است.

آزمایش Western Blot

استخراج پروتئین از سلول ها، آزمایشهای الکتروفورز و Blotting طبق روش هایی که در مطالعات قبلی اشاره شده است انجام شد (۲۳, ۲۴). آنتی بادی پلی کلونال *Cdk9* تهیه شده از خرگوش (H-169, sc-8338, Santa Cruz Biotechnology) و آنتی بادی منوکلونال موشی B-actin (T6199, Sigma) به نسبت ۱:۵۰۰ رقیق شده در بافر PBS، 2.5% Blotto, 0.05% Tween-20 و همچنین آنتی بادی ثانویه تهیه شده در بز (goat anti-rabbit) و آنتی بادی ثانویه خرگوشی (rabbit

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]

(anti-mouse) (Santa Cruz Biotechnology) نشان‌دار شده با آنزیم پروکسیداز با رقت ۱:۱۰۰۰۰ استفاده شدند.

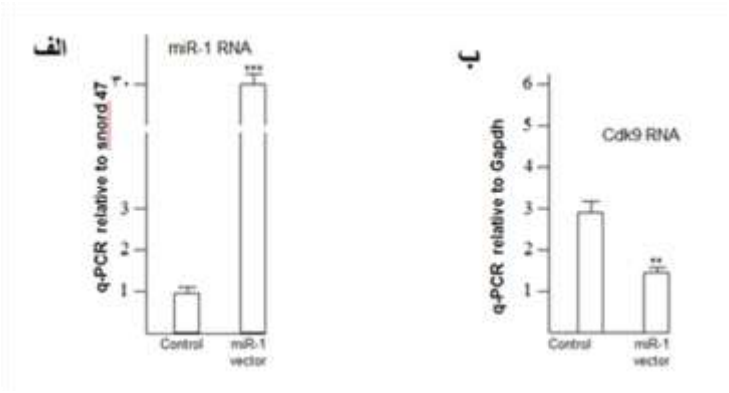
آنالیز آماری

جهت بررسی اختلاف بین گروه ها از آزمون واریانس ANOVA استفاده شد و سطح اختلاف معناداری بین گروه ها p value کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

انتقال وکتور بیان کننده miR-1 به داخل سلول باعث کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود.

در بسیاری از موارد جهت مطالعه نقش microRNA ها در سلول های مختلف، بیان آنها را در داخل سلول افزایش می دهند. این افزایش بیان با استفاده از یک وکتور یوکاریوتی انجام می شود که پیش‌ساز microRNA را در داخل وکتور کلون و بیان می کنند. در مرحله اول تحقیق، ما هم پیشساز miR-1 موشی را در داخل وکتور pPRO-miR-1 کلون کرده و



نمودار ۱ انتقال وکتور بیان کننده miR-1 به داخل سلول باعث کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود. الف) افزایش بیان miR-1 در سلول های فیبروبلاست بوسیله آزمایش Real time PCR اندازه گیری شد. ب) بیان ژن Cdk9 در سلول های ترنسفکت شده با وکتور و سلول های کنترل بوسیله آزمایش Real time PCR اندازه گیری شد. *** سطح معنا داری p<۰/۰۰۱ و * سطح معنا داری p<۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

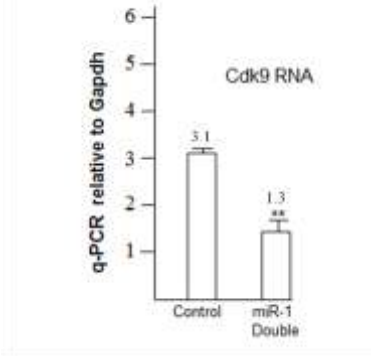
وکتور بیان کننده miR-1 به داخل سلول های فیبروبلاست منتقل شد. افزایش بیان miR-1، پس از استخراج RNA از سلول و cDNA سازی، بوسیله آزمایش Real Time PCR اندازه‌گیری شد و نشان داده شد که miR-1 به صورت معنی داری در سلول ها افزایش بیان داشته است (افزایش ۳۰ برابر) (نمودار ۱ الف). در ادامه تاثیر افزایش بیان miR-1 بر روی ژن *Cdk9* که یکی از ژنهای هدف آن می باشد مطالعه شد. در این راستا آزمایش Real time PCR نشان داد که بیان ژن *Cdk9* در سلول های ترنسفکت شده کاهش یافته است (نمودار ۱ ب).

انتقال miR-1 دو رشته ای به داخل سلول باعث کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود

به منظور مقایسه تاثیر microRNA دورشته ای بالغ با حالت کلون شده در کاهش بیان ژن هدف، در این مرحله miR-1 دو رشته ای بالغ ۲۲ نوکلئوتیدی سنتز و به داخل سلول های فیبروبلاست منتقل شد. بعد از ۴۸ ساعت RNA از سلول ها استخراج شد و Real time PCR انجام شد. نتایج حاصل نشان می دهد که miR-1 دو رشته ای بالغ سنتزی به مانند وکتور بیان کننده miR-1، فعالیت مهاری خود را نشان داده و باعث کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود (نمودار ۲).

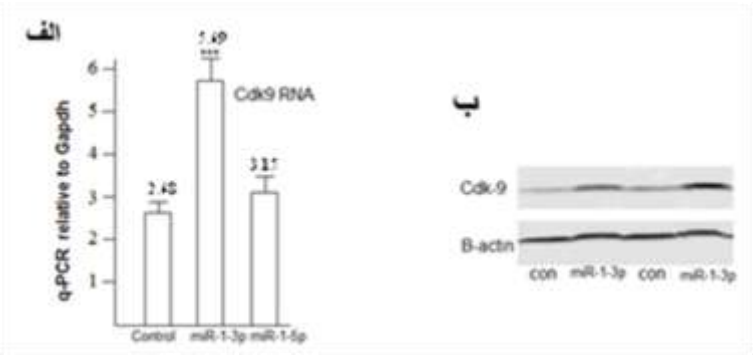
انتقال miR-1-3p تک رشته به داخل سلول باعث افزایش بیان ژن *Cdk9* می شود

همچنان که ذکر شد انتقال microRNA به صورت دو رشته ای بالغ باعث مهار ژن هدف می شود. سوالی در این رابطه مطرح است، آیا microRNA به صورت تک رشته بالغ می تواند نقش مهاری خود را ایفا کند؟ جهت جواب دادن به این سوال، قسمت ′۳ از miR-1 (miR-1-3p) به صورت تک رشته ۲۲ نوکلئوتید سنتز شده و به سلول های فیبروبلاست منتقل شد. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که ناحیه ′۳ تک رشته از miR-1 بر خلاف حالت دو رشته ای باعث افزایش بیان ژن *Cdk9* می شود (نمودار ۳ الف). افزایش بیان ژن *Cdk9* حتی در سطح پروتئین با



نمودار ۲ miR-1 دو رشته ای باعث کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود. بیان ژن Cdk9 در سلول های ترنسفکت شده با miR-1 دورشته ای و سلول‌های کنترل بوسیله آزمایش Real time PCR اندازه گیری شد. *** سطح معنا داری p<۰/۰۰۱ و * سطح معناداری p<۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]



نمودار ۳ miR-1 تک رشته باعث افزایش بیان ژن *Cdk9* می شود. الف) بیان ژن Cdk9 در سلول های ترنسفکت شده با miR-1 تک رشته و سلول های کنترل بوسیله آزمایش Real time PCR اندازه گیری شد. ب) افزایش بیان Cdk9 در سطح پروتئین را نشان می‌دهد. *** سطح معنا داری p<۰/۰۰۱ و * سطح معناداری p<۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

انجام آزمایش Western Blot نشان داده شد. علاوه بر این جهت بررسی بیشتر، ناحیه ´۵ تک رشته از miR-1 (miR-1-5p) هم به صورت تک رشته ای ۲۲ نوکلئوتید سنتز و به سلول های فیبروبلاست منتقل شد. در این مورد افزایش یا کاهش بیانی در ژن *Cdk9* مشاهده نگردید.

بحث:

miR-1 بالغ تک رشته، بر خلاف miR-1 دو رشته ای و وکتور بیان کننده miR-1 که مهار کننده بیان ژن Cdk9 هستند، باعث افزایش بیان این ژن می گردد. این حالت می تواند نقش مهمی در تنظیم بیان ژن Cdk9 و microRNA-1 در شرایط پاتولوژیک داشته باشد. علاوه بر نقش تنظیمی microRNA ها در شرایط فیزیولوژیک بدن، تغییر بیان غیر طبیعی آنها در بسیاری از بیماریها مشاهده شده است. به عنوان مثال تغییر بیان نابجای microRNA های miR-10b، miR-9، miR-31 و miR-335 در سرطان سینه مشاهده شده است (۲۵). دلیل تغییر بیان miR ها در سرطان را علاوه بر تنظیم ژنهای کلیدی مرتبط با سرطان به قرار گیری miRNAها در مناطق بی ثبات کروموزومی (افزایش تعداد کپی، جابجایی، یا حذف ژن) هم نسبت می دهند (۲۶). بطوریکه بر اساس نقش microRNAها در سرکوب یا ایجاد سرطان، آنها را به دو دسته ایجاد کننده یا مهار کننده سرطان تقسیم بندی می کنند (۲۷). به عنوان مثال miR-16 و miR-15 توسط ژن p53 القا شده و فعالیت سرکوبگری تومور دارند و کاهش بیان آنها در سرطان گزارش شده است (۲۸). بنابرین با توجه به نقش حیاتی miRNA ها در فرایند تومورزایی و بیان اختصاصی آن ها در بیماری های مختلف، این مولکول ها بالقوه اهداف درمانی و بیومارکرهایی جدید می باشند. به نظر می رسد که مولکول های ضد miRNA ها، که به عنوان "antagomir ها" شناخته می شوند، می توانند خواص آنکوژنی miRNA ها را مسدود کنند. برعکس با کاهش بیان microRNA های سرکوب کننده سرطان، راهکارهای افزایش بیان آنها را پیشنهاد می کنند (۲۹). بنابراین miRNA ها را می توان به عنوان اهداف درمانی امیدبخشی در درمان نوسانات سلول های بنیادی سرطانی در نظر گرفت.

علاوه بر تحقیقات با دید درمانی، مطالعات کاربردی با هدف کشف نقش تنظیمی microRNA از طریق افزایش یا کاهش بیان آنها انجام می دهند. برای مثال افزایش بیان miRNA های سرکوبگر تومور، مانند let-7g، میزان تومور را در مدل موشی K-RAS سرطان ریه کاهش می دهد (۲۹). یا افزایش بیان کلاستر آنکوژن mir-17-92 منجر به اختلال لنفوپرولیفراتیو می‌شود و افزایش بیان این کلاستر در لنفوم سلول B به طور چشمگیری موجب افزایش تومورزایی خواهد شد (۹, ۳۰). بنابرین محققان راهکارهایی را پیشنهاد داده اند که بتوان با تنظیم بیان microRNA ها از روند و پیشرفت بیماری جلوگیری نمود. در شرایط افزایش بیان microRNA، از RNA های سنتزی آنتی سنس یا آنتاگومیر جهت مهار و کاهش فعالیت microRNA استفاده می کنند و برعکس در مواردی که کاهش بیان آن باعث بیماری شود تلاش می کنند تا بیان miR مد نظر را افزایش دهند. بدین منظور معمولا microRNA ها را یا به شکل RNA بالغ دو رشته ای و یا با استفاده از وکتور های بیان کننده microRNA به داخل سلول یا بدن موجودات هدایت می کنند. در مطالعه حاضر، جهت مقایسه این دو روش مذکور، ابتدا پیشساز miR-1 به صورت کلون شده به داخل سلول های فیبروبلاست ترنسفکت شد.

نتیجه‌گیری:

نتایج حاصل قابل پیش بینی بود و نشان داده شد که افزایش بیان miR-1 در حالت کلون شده باعث کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود. در ادامه miR-1 بالغ ۲۲ نوکلئوتید دو رشته ای به داخل سلول های فیبروبلاست منتقل شد. نتایج حاصل از این روش نیز به مانند روش قبلی منجر به کاهش بیان ژن *Cdk9* می شود. جالب اینکه انتقال miR-1 بالغ تک رشته به داخل سلول، برخلاف دو مورد قبلی، باعث افزایش معنی دار بیان ژن *Cdk9* می-شود. با اینکه مکانیسم افزایش بیان مشخص نیست، اما این نوع روش افزایش بیان که نیازی به استفاده از ویروس و ژن بیگانه ندارد، می تواند در افزایش بیان ژنهای کلیدی با اهداف مختلف بسیار ارزشمند باشد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]

منابع:

1. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell 1993; 75(5): 843-854.
2. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ. miRBase: tools for microRNA genomics .Nucleic acids research 2008; 36(suppl 1): D154-D158.
3. Lee RC, Ambros V. An extensive class of small RNAs in Caenorhabditis elegans. Science 2001; 294(5543): 862-864.
4. Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, Moss E, Dmitrovsky E, Ambros V. Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. Genome biology 2004; 5(3): R13.
5. Wagner KD, Wagner N, Ghanbarian H, Grandjean V, Gounon P, Cuzin F. RNA induction and inheritance of epigenetic cardiac hypertrophy in the mouse. Developmental cell 2008; 14 (6): 962-969.
6. Wienholds E, Kloosterman WP, Miska E, Alvarez-Saavedra E, Berezikov E, de Bruijn E, et al. MicroRNA expression in zebrafish embryonic development. Scienc 2005; 309(5732): 310-311.
7. Johnson SM, Grosshans H, Shingara J, Byrom M, Jarvis R, Cheng A, et al. RAS is regulated by the let-7 microRNA family. Cell 2005; 120(5): 635-647.
8. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. nature 2005; 435(7043): 834-838.
9. He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. Nature 2005; 435(7043): 828-833.
10. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. Nature reviews cancer 2006; 6(11): 857-866.
11. Mayr C, Hemann MT, Bartel DP. Disrupting the pairing between let-7 and Hmga2 enhances oncogenic transformation. Science 2007; 315(5818): 1576-1579.
12. He L, He X, Lim LP, De Stanchina E, Xuan Z , Liang Y, et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. Nature 2007; 447(7148): 1130-1134.
13. Gregory RI, Yan K-p, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. Nature 2004; 432(7014): 235-240.
14. Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. Nature 2003; 425(6956): 415-419.
15. Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. Nature 2001; 409(6818): 363-366.
16. Grishok A, Pasquinelli AE, Conte D, Li N, Parrish S, Ha I, et al. Genes and mechanisms related to RNA interference regulate expression of the small temporal RNAs that control C. elegans developmental timing. Cell 2001; 106(1): 23-34.
17. Hutvágner G, McLachlan J, Pasquinelli AE, Bálint É, Tuschl T, Zamore PD. A cellular function for the RNA-interference enzyme Dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA. Science. 2001 293(5531): 834-838.
18. Ketting RF, Fischer SE, Bernstein E, Sijen T, Hannon GJ, Plasterk RH. Dicer functions in RNA interference and in synthesis of small RNA involved in developmental timing in C. elegans. Genes & development 2001; 15(20): 2654-2659.
19. Knight SW, Bass BL. A role for the RNase III enzyme DCR-1 in RNA interference and germ line development in Caenorhabditis elegans. Science 2001; 293(5538): 2269-2271.
20. Doench JG, Petersen CP, Sharp PA. siRNAs can function as miRNAs. Genes & development 2003; 17(4): 438-442.
21. Doench JG, Sharp PA. Specificity of microRNA target selection in translational repression. Genes & development 2004; 18(5): 504-511.
22. Humphreys DT, Westman BJ, Martin DI, Preiss T. MicroRNAs control translation initiation by inhibiting eukaryotic initiation factor 4E/cap and poly (A) tail function. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2005; 102(47): 16961-1696.
23. Ghanbarian H, Wagner N, Polo B, Baudouy D, Kiani J, Michiels J-F, et al. Dnmt2/Trdmt1 as Mediator of RNA Polymerase II Transcriptional Activity in Cardiac Growth. PloS one 2016; 11(6): e0156953.
24. Ghanbarian H, Wagner N, Michiels J-F, Cuzin F, Wagner K-D, Rassoulzadegan M. Small RNA-directed epigenetic programming of embryonic stem cell cardiac differentiation. Scientific Reports 2017; 7.
25. Hurst DR, Edmonds MD, Welch DR. Metastamir: the field of metastasis-regulatory microRNA is spreading. Cancer research 2009; 69(19): 7495-7498.
26. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, Hyslop T, Noch E, Yendamuri S, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America 2004; 101(9): 2999-3004.
27. Ventura A, Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go a long way. Cell 2009; 136(4): 586-591.
28. Domen J, Cheshier SH, Weissman IL. The role of apoptosis in the regulation of hematopoietic stem cells. Journal of Experimental Medicine 2000; 191(2): 253-264.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]

29. Zhu S, Si M-L, Wu H, Mo Y-Y. MicroRNA-21 targets the tumor suppressor gene tropomyosin 1 (TPM1). Journal of Biological Chemistry 2007; 282(19): 14328-14336.

30. Xiao C, Srinivasan L, Calado DP, Patterson HC, Zhang B, Wang J, et al. Lymphoproliferative disease and autoimmunity in mice with increased miR-17-92 expression in lymphocytes. Nature immunology 2008; 9(4): 405-414.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-09-07]