

人及小鼠钠通道 *SCN3A* 基因的启动子 及其上游调控区的分析*

龙跃生 赵绮华 曾 涛 曾 杨 孙卫文 廖卫平**

(广州医学院第二附属医院神经科学研究所, 神经遗传与离子通道病省部共建教育部重点实验, 广州 510260)

摘要 为了比较研究人与小鼠 *SCN3A* 基因的启动子及其上游调控区的特征, 采用 5'-Full RACE 方法对人和小鼠 *SCN3A* 基因的转录起始点进行了准确定位, 通过序列测定及对比分析证明: 确定人和小鼠 *SCN3A* 基因的转录起始点均为“A”, 人 *SCN3A* 基因转录起始点位于翻译起始点上游约 27 kb 处, 而小鼠位于翻译起始点上游约 31 kb 处. 人 *SCN3A* 基因 5' 非翻译区存在两个 5' 非翻译外显子, 而小鼠只有一个 5' 非翻译外显子. 人和小鼠 *SCN3A* 基因核心启动子区(-80 ~ +70) 的同源率高达 96.0%, 存在相同的启动子核心元件, BRE/ 和 TATA; 在-400 至+200 区段内预测到人存在而小鼠不存在的转录因子有 *PHR1*、*GATA-1*、*FOXN2*、*NF-1* 及 *AP-4*, 小鼠存在而人不存在的转录因子 *Sp*、*Sp3* 及 *GBF*. 人和小鼠 *SCN3A* 启动子区特征的异同将为进一步研究该基因在人和小鼠的表达调控机制提供重要线索.

关键词 转录起始点, 电压门控型钠通道, *SCN3A*, 启动子

学科分类号 R742

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00450

电压门控型钠通道(voltage-gated sodium channels, VGSCs) 在脑兴奋过程中发挥重要的角色, 主要负责神经元动作电位的产生与传导. VGSCs 是一个蛋白质复合物, 是由一个 α 亚基和 1 个或多个 β 亚基($\beta 1 \sim \beta 4$) 组成, 其中 α 亚基组成 VGSCs 的主要部分, 是 VGSCs 的功能性亚基, 而 β 亚基则对 α 亚基在膜上的定位以及稳定性起着重要的辅助作用, 并参与调节 α 亚基的电压敏感性和失活过程^[1]. 目前已从哺乳动物中鉴定出 9 个钠通道 α 亚基($Na_v1.1 \sim Na_v1.9$), 它们在不同组织细胞的分布及功能均有差别^[2].

上述所有的 VGSCs 亚型, 只有 $Na_v1.1$ 、 $Na_v1.2$ 、 $Na_v1.3$ 和 $Na_v1.6$ 主要在中枢神经系统中表达, 编码这 4 种亚型的基因分别是: *SCN1A*、*SCN2A*、*SCN3A* 和 *SCN8A*, 这些基因在中枢神经系统中的表达及 VGSCs 的定位受到严格的调控^[3,4]. 人脑片定位研究发现, $Na_v1.1$ 和 $Na_v1.3$ 主要位于神经元的胞体部位, 负责整合来自树突的刺激信号, 建立动作电位产生和传播的阈值^[5]. $Na_v1.2$ 主

要位于轴丘和未髓鞘化的轴突上, 负责动作电位的形成和传播^[6]. 在神经元的发育过程中, $Na_v1.6$ 位于郎飞氏节(nodes of Ranvier)和轴突末梢, 负责动作电位的传播和突触前膜神经递质的释放^[7]. 在啮齿动物中, $Na_v1.3$ 在胚胎期的神经组织中丰量表达, 而 $Na_v1.1$ 、 $Na_v1.2$ 和 $Na_v1.6$ 是在成年期的神经组织中丰量表达^[3,4]. 在小鼠生后发育过程中, $Na_v1.1$ 在生后第 16 天开始出现, 到第 4 周达到成年水平, $Na_v1.2$ 在生后第 1 天开始出现, 第 16 天达到成年水平^[8]. 这些结果说明, *SCN1A*、*SCN2A*、*SCN3A* 和 *SCN8A* 基因在不同物种以及不同发育阶段的表达水平不一致. *SCN3A* 基因在人和鼠中的

* 国家自然科学基金资助项目(30600198), 广东省自然科学基金博士科研启动项目(06301101)和广东省名医工程研究项目(粤卫[2004]18号).

** 通讯联系人.

Tel: 020-34152625, E-mail: wpliao@tom.com

收稿日期: 2008-06-25, 接受日期: 2008-08-05

表达有很大差异:人 *SCN3A* 基因既在胚胎期脑中表达,也在成年人脑中表达,而鼠 *SCN3A* 基因只在胚胎期脑中表达^[3,9].导致人和鼠 *SCN3A* 基因差异表达的原因还未见报道,其表达产物 $\text{Na}_v1.3$ 在成年人脑中是否具有特殊的作用也未知。

基因的启动子及其相关的转录元件是调节基因时空表达的最重要一个因素.在所有中枢神经系统表达的钠通道基因中,*SCN2A* 和 *SCN8A* 的启动子已有报道^[10,11],我们最近也研究了 *SCN1A* 基因启动子的功能(相关文章已接受).但 *SCN3A* 基因的启动子及其上游调控区还未见报道.本研究采用 5'-Full RACE 方法对人及小鼠 *SCN3A* 基因的转录起始点进行了准确定位,获得该基因的启动子及其上游调控区的位置.比较分析了人及小鼠 *SCN3A* 基因的启动子及其上游调控区的特点,提出可能造成人和鼠 *SCN3A* 基因差异表达的原因,为进一步研究 *SCN3A* 基因在人和小鼠的表达调控机制提供重要线索.

1 材料与方法

1.1 质粒、菌株及试剂

pGEM-T 载体为 Promega 公司产品; *E. coli* TOP10 菌株为本室保种; TRIzol 试剂为 Invitrogen 公司产品; 5'-Full RACE 试剂盒(编号: D315); ExTaq DNA 聚合酶; T4 DNA 连接酶; 5-溴-4-氯-3-吡啶- β -D-乳糖苷(X-gal); 异丙基- β -D-硫代半乳糖苷(IPTG); 各种限制性内切酶; PCR 产物凝胶回收试剂盒; 质粒抽提纯化试剂盒均为 TaKaRa 公司产品; 琼脂糖为 Biowest 公司产品; 其余试剂均为国产分析纯.

1.2 引物设计

采用引物设计软件 Primer Premier 5.0, 根据人 *SCN3A* 基因(NCBI 收录号: NM_006922)和小鼠 *SCN3A* 基因(NCBI 收录号: NM_018732)的第一个编码外显子及其 5' 侧翼序列来设计 5'-Full RACE 反应 *SCN3A* 基因特异外侧和内侧引物. 人 *SCN3A* 基因特异性外侧引物: 5' GGGGTACCAACAGTG-CCTGTGCCAT 3', 人 *SCN3A* 基因特异性内侧引物: 5' CCTAGAAGAGATTCTTTGCTCCTTTCCC-AG 3', 小鼠 *SCN3A* 基因特异性外侧引物: 5' GG-TACCAGCAGTGCTGGGCCAT 3', 小鼠 *SCN3A* 基因特异性内侧引物: 5' GCATAAGAATTGCCT-GATGGAGAGCCTTAGG 3'.

1.3 总 RNA 提取及 5'-Full RACE 反应

小鼠的脑组织来自新生小鼠的全脑,人脑组织来自脑外科手术剔除多余的大脑皮质,实验材料的采集通过了广州医学院第二附属医院伦理委员会同意. 采用 TRIzol 试剂提取人及小鼠脑组织总 RNA,其操作步骤完全按照试剂的说明书进行. 采用荧光分析仪测定 RNA 样品的浓度及纯度(依据 A_{260}/A_{280} 值),并通过琼脂糖凝胶电泳测定总 RNA 完整性. 5'-Full RACE 反应参照试剂盒说明书进行实验,略作修改. 具体操作如下: a. 反转录反应. 总 RNA 先用 DNase I 酶处理以除掉残留的 DNA,然后以处理过的总 RNA 为模板,以 *SCN3A* 基因特异性外侧引物进行反转录反应. b. 第一轮 PCR. 以反转录产物为模板,以 5'-Full RACE 外侧引物和 *SCN3A* 基因特异性外侧引物作为引物对进行 PCR 反应. 94℃ 4 min; 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 3 min, 20 个循环; 72℃ 10 min. c. 第二轮 PCR. 以第一轮 PCR 产物为模板,以 5'-Full RACE 内侧引物和 *SCN3A* 基因特异性内侧引物进行 PCR 反应. 94℃ 4 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 3 min, 30 个循环; 72℃ 10 min. PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定,并由上海生物工程有限公司测序进行初步鉴定,经测序鉴定的 PCR 产物再克隆到 pGEM-T 载体中,每个 PCR 产物各挑取 50 个阳性克隆进行测序鉴定. 根据测序结果中 5'-Full RACE 内侧引物的序列来确定转录起始位点.

1.4 序列分析

将 5'-Full RACE 所获得的序列在 NCBI 网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>)上进行比对,以确定 *SCN3A* 基因 5' 非翻译区的框架. 转录起始点上游的启动子及其上游调控区的序列从 ENSEMBL 数据库(<http://www.ensembl.org/>)下载(登录号分别为人 *SCN3A*: ENSG00000153253 和小鼠 *SCN3A*: ENSMUSG00000057182). 采用 PROMO 3.0 程序及 TRANSFAC 数据库(Version 8.3)在线预测 *SCN3A* 基因启动子及上游调控序列的(<http://algen.lsi.upc.es/>)转录元件及转录因子^[10,12,13]. 采用 Vector NTI suite 6 软件进行人及小鼠转录起点上游的启动子及其上游调控区的序列比对分析.

2 结 果

2.1 *SCN3A* 基因转录起始点的确定

为了确定人和小鼠 *SCN3A* 基因的转录起始点,

本研究采用 TaKaRa 公司生产的 5'-Full RACE 试剂盒来扩增 *SCN3A* 基因 5' 端全长。PCR 产物电泳分析表明：从人的样本中获得一条约 400 bp 大小的片段，而小鼠大约为 250 bp(图 1)。PCR 产物经过测序初步证实为阳性片段后，再克隆到 pGEM-T 载体构建重组质粒。从转化平板上分别挑取 30 个阳性菌落进行测序。测序结果表明，所有克隆的插入片段序列均一致，人 *SCN3A* 基因 5' 非翻译区大小为 345 bp，小鼠为 221 bp(图 2)。根据试剂盒提供的 Adaptor 引物序列，可以确定人和小鼠 *SCN3A* 基因的转录起始点均为“A”(箭头示)。

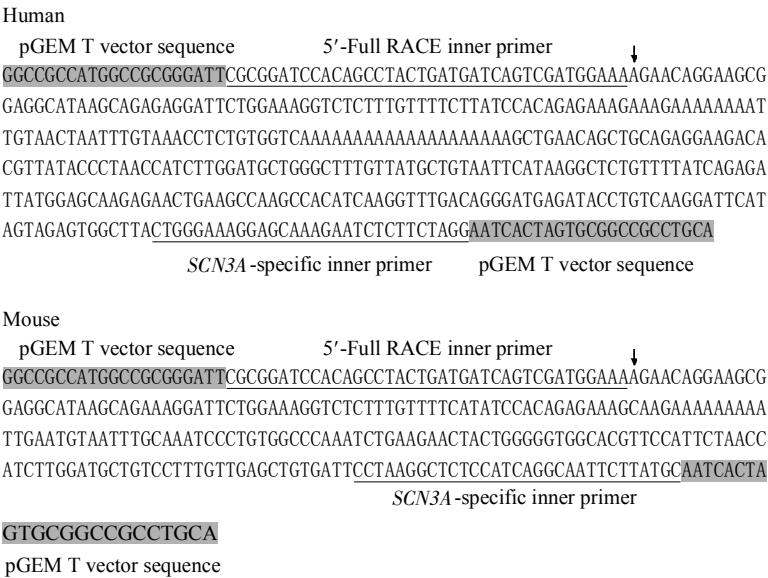
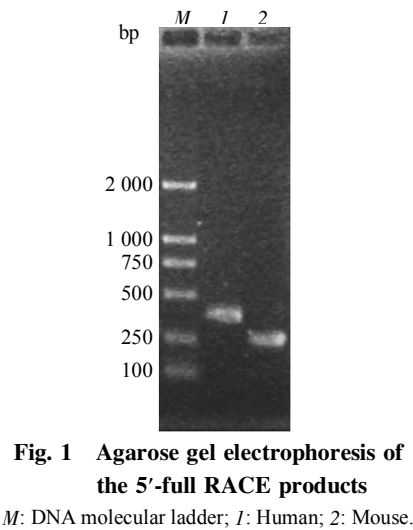


Fig. 2 Nucleotide sequences of the 5'-untranslated region

The arrows show the transcriptional start sites.

2.2 *SCN3A* 基因 5'非翻译区结构

序列对比发现，人 *SCN3A* 基因位于翻译起始点(ATG)上游约 27 kb 处，并且存在两个 5'非编码外显子(5'-untranslated exon, 5UTRE)，分别命名为

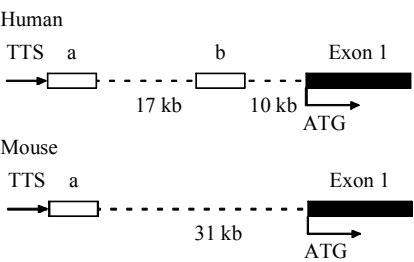


Fig. 3 Identification of the 5'-untranslated exons of the transcripts of human and mouse *SCN3A*

TTS: Transcription start site; ATG: Translation start site; Genomic distances between exons are indicated in kilobases.

“a”和“b”，外显子 a 和 b 之间相隔约 17 kb，外显子 b 和编码外显子相隔约 10 kb，而小鼠 *SCN3A* 基因位于翻译起始点约 31 kb 处，存在一个 5UTRE，命名为“a”，外显子 a 与编号外显子相隔约 31 kb(图 3)。

2.3 人和小鼠 *SCN3A* 基因启动子区及上游调控区的序列相似性

为了比较人与小鼠 *SCN3A* 基因启动子及其上游调控区的相似性，采用软件将 *SCN3A* 基因的转录起始点上游 2 500 bp 片段及外显子 a 序列进行相似性排比。结果如表 1 所示：从-2 500 到 +200 区段，人和小鼠的同源率为 50.6%，转录起始点上游 -200 以上的同源率低于平均值，仅为 46.8%，转录起始上游 200 bp 以内的同源率高达 81.3%，非

编码外显子 a 的同源率为 76.9%，核心启动子区的同源率高达 96.0%。通过序列排比发现，小鼠的-278 至-252 区段为一段富含 GC 的片段，而人的

相应位置不存在这一特征序列，人的+114 至+136 区段为一段富含 A 的片段，而小鼠的相应位置不存在(图 4)。

Table 1 Sequence identity of the core promoter region and upstream regulation region of human and mouse *SCN3A* gene

Location	-2 500~+200	-2 500~-200	-200~+1	+1~+200	-80~+70
Identity/%	50.6	46.8	81.3	76.9	96.0
Human	TTTTCAAACAGTAATTTATAATATCTTTTAAATTTAGTAGTTATAGT---				-386
Mouse	TATATGTTGTACTATTTTCTAAGAAACCAGATTTTTC-ACCTTGTTGGGA				-423
Human	--GTGAACAATCATGCAAAACAACAAGTGATAAAATTTTIAAAAAA				-338
Mouse	GGGGGACCTCATCTTGGAAAGGCGAGCTTAGAGAGATTTTATGAAAACC				-373
Human	TT--AGTGAGATGCAAACTAACTGAATATGTAAAAAGTCTCATACATATTT				-290
Mouse	TGTGATTCCTAATCAAACTAGAAATTAAGTAA-ATACATAAAG				-324
	PHR1 q=0.883				
Human	ATATGT-AGTACATAAGT-T-ACATTTTITTAGTGTGTGGGAATT--				-245
Mouse	AGGCGTGAAGGTTAAGCTGTCACATCGTGTGGTAGCTAGGTTACCCCC				-274
	GATA-1 q=0.993				
	CPG				
Human	-----TTAGCTCAGTCACTCTCTACTGTCACTTGGGGC				-209
Mouse	CACCACCCCCCTCCCCCTCCATCTCTCTGCTGTCACTGGGGC				-224
	SPI q=0.994				
Human	ACTTTCATGACACCCATGCTTC-ATGCAGGTTTACTTCTCCCT----				-163
Mouse	CCTTACATGATTCATAATGTTTCCATACAGGTTTGCTCTGCTTCCGA				-174
	FOXN2 q=0.935				
Human	-GTGACAGAGATAATGGAATGTTTTTCTTTGGGTCAATTTTGTGTGT				-114
Mouse	AGAGATGGAGATAATAGGAGTGTTTTGTCTTTGGCAATG-TCGTGT				-126
	NF-1 q=1.000				
Human	GTCGCCAGTAGATGGCGGTACCCTTTGAGTGCAGTGGCTTTT----T				-67
Mouse	GCTGCCAGTAGATGGCAGTACACGTTGATGCTGCCAGCTTTTCTTT				-76
	TATA				
Human	TTCTTTCTTTTTTTTTT-T-----CCT-CAAAGCTGTTTCTGATATA				-26
Mouse	TTCTTTCTTTTTTTTTT-TTTTTTCTTCCAGGGCCGTTTCTGATATA				-26
	TMF q=0.960				
	BRE → +1				
Human	TGTGGGTACCATAGAGTGAATCTCAGAACAGGAAGCGGAGGCATAAGCA				+25
Mouse	TGTGGGTATCATAGAGTGAATCTCAGAACAGGAAGCGGAGGCATAAGCA				+25
	TF II B q=0.989				
Human	GAGAGGATTCTGAAAGGTCTCTTTGTTTTCTTATCCACAGAGAAAGAA				+75
Mouse	GAAAGGATTCTGAAAGGTCTCTTTGTTTTCAATATCCACAGAGAAAGCAA				+75
Human	GAAAAAAA-TTGTACTAATTGTAAACCTCTGTGGTCAAAAAA				+124
Mouse	GAAAAAAAATTGATGTAAATTCAAAATCCCTGTGGCCCAAA				+119
	Sp3 q=0.963				
Human	AAAAAAAAAAGCTGACAGCTGCAGAGCAACACGTTATACCTAACC				+174
Mouse	-----CTGAAGAACTACTGGGGTGCACGTTCCATTCTAACC				+155
	AP-4 q=0.977 GBF q=0.927				
Human	ATCTTGGATGCTGGCTTTGTTATGCTGTAAATCAAGGCTCTGTTTATA				+224
Mouse	ATCTTGGATGCTGTCCTTTGTTGAGCTGTGATTCCTAAGGCTCTCCATCA				+205

Fig. 4 Putative transcription factors and their binding sites in the region between -400 and +200

The transcriptional start site is marked with “+1”; putative transcriptional elements are boxed; the letter “ q ” means the quantity of reliability.

2.4 *SCN3A* 基因启动子区的转录调控元件及转录因子

采用生物学软件预测了 *SCN3A* 基因-2 500 到 +200 区段的转录因子及其作用的转录元件(可信度域值 $\geq 85\%$), 预测到 500 多个转录因子. 图 4 显示-300 至+200 区段的部分潜在转录元件及作用的转录因子(斜体示转录因子): 启动子核元件有 BRE/*TF II B* (-5~+3)和 TATA/*TMF* (-32~-26), 人和小鼠均存在; 除此之外, 在 300 至+200 区段内预测到人存在而小鼠不存在的转录因子有 *PHR1* (-318~-313)、*GATA-1* (-281~-274)、*FOXN2* (-175~-164)、*NF-1* (-134~-130)及 *AP-4* (+141~+151), 小鼠存在而人不存在的转录因子 *Sp1* (-262~-251)、*Sp3* (+99~+109)及 *GBF* (+130~+140); 在小鼠的 *Sp1* 作用元件内存在一个 GC 盒 (CpG box: CCGGCC), 而人的-400 至+200 区段没有发现 GC 盒.

3 讨 论

本研究采用 5'-Full RACE 方法获得了人和小鼠 *SCN3A* 基因转录起始点, 从而为比较分析人和小鼠 *SCN3A* 基因的核心启动子及其上游调控区的特征提供了前提条件. 过去研究发现, 各个钠通道基因存在多个转录起始点, 如 *SCN2A* 和 *SCN5A*^[11, 14]. 为此我们各挑取 50 个克隆进行测序, 分析结果表明人和小鼠均只发现一个转录起始点. 将所得的 T 载体插入片段的序列在 NCBI 网上进行 Blast 分析, 结果发现, 人 *SCN3A* 基因转录起始位于起始密码子(ATG)上游约 27 kb 处, 而小鼠 *SCN3A* 基因转录起始点位于 ATG 上游约 31 kb 处(图 2), 人 *SCN3A* 基因 5'-UTR 包括 2 个外显子, 外显子 a 和外显子 b. 本研究所发现的人 *SCN3A* 基因 5'-UTR 结构与 Martin 等^[15]所报道类似, 其中外显子 b 的大小与位置均一致, 而外显子 a 位置相符, 但大小不一致, 我们所发现外显子 a 要比 Martin 等所报道短 44 bp, 小鼠 *SCN3A* 基因 5'-UTR 结构也与 Martin 等所报道类似, 只有一个编码子 a, 两者位置也一致, 但我们所发现的外显子 a 要短 60 bp. 5'-Full RACE 实验的原理是: 5'端不完整的 mRNA 由于没有 7- 甲基鸟苷(m7Gppp)的帽子不能与 RNA 接头(adaptor)相连, 而不可能被扩增和克隆, 因此本实验所得转录起始位点是准确而可靠的. Martin 等^[15]还发现, 约 90%(总共 44 个克隆)的克隆是从外显子 a 起始转录, 也有少数(约 10%)是从外显子

b 起始转录. 我们检测了 50 个克隆, 发现都是从小外显子 a 起始转录, 可见, 与其他钠通道基因一样, 人 *SCN3A* 基因也不只有一个启动子, 但外显子 a 及其上游所在的启动子是 *SCN3A* 基因的主要启动子, 小鼠与人不同的是其 *SCN3A* 基因外显子 a 是目前所发现的唯一的起始转录区.

尽管人与小鼠 *SCN3A* 基因的转录起始点位置和 5'-UTR 结构均有较大的差别, 但人 *SCN3A* 基因主要转录起点附近区域与小鼠相比较, 同源率高达 96%(-80~+70, 表 1), 而且-200~+200 区段的同源率大约是-200~-2 500 区段的 2 倍, 这提示它们具有功能的保守性和重要的进化意义.

人与小鼠 *SCN3A* 基因预测有相同的核心启动子元件: TATA(*TMF* 结合位点)和 BRE(*TF II B* 结合位点). 这提示人与小鼠 *SCN3A* 基因具有基本一致的核心启动子区. 一般地说, 核心启动子是由转录因子 *TBP* 结合 TATA 元件, 但我们用了不同的分析程序(PROMO、Promoter 2.0、PromoScan)预测-300~+1 区段, 没有发现潜在的 *TBP* 结合位点. 而用 PROMO 可以预测到一个高可信度的 *TMF* 结合位点($q=0.960$, -32~-26), 其结合区位置与传统的 TATA 元件一致(-31~-26). 因此 *SCN3A* 基因的 TATA 元件很可能是 *TMF* 结合位点, 因为有研究表明 *TMF* 可代替 *TBP* 与 TATA 元件结合激活转录^[16]. *TF II B* 是一种重要的核心启动子转录因子, 本研究预测到一个由 *TF II B* 结合的 BRE 核心启动子元件, 位于-5~+3 处, 但与传统的 BRE 位置有较大的差别(-42~-32)^[17]. 这些预测的核心启动子元件的功能有待于进一步通过实验证实.

预测到在人 *SCN3A* 基因启动子区(-400~+20)存在但小鼠相应位置没有的转录因子有: *PHR*、*FOXN*、*NF-1* 及 *AP-4*. *PHR1* 已被证实, 在哺乳动物中枢神经系统的神经元轴突的形成发挥重要作用^[18], *FOXN* 与哺乳动物的胚胎发育相关, 其表达时间与 *SCN3A* 基因的表达时间比较一致^[19], *NF-1* 是一个比较普遍存在的核转录因子, *AP-4* 在非神经性细胞中表达, 作用是抑制目的基因在非神经性细胞中表达, 它很可能是人 *SCN3A* 基因在神经细胞特异性表达的一个重要的转录因子^[20]. 预测到在小鼠 *SCN3A* 基因启动子区(-400~+20)但人相应位置没有的转录因子有: *Sp1*、*Sp3* 及 *GBF*. *Sp1* 可能结合一个富含 GC 区段, 结合区还包括一个 GC 框(图 4), GC 框是启动子一个重要转录元件, 有激活转录的功能, 即使处于甲基化状态下, *Sp1* 与其

结合激活基因转录^[21]; *Sp3* 与神经系统特异表达因子(NRSF)相互作用调节基因在神经性细胞中特异表达; *GBF* 与富含 GC 区相结合, 调节一系列 cAMP 信号转导系统相关的基因表达^[22]. 上述预测到的这些转录因子对人和小鼠 *SCN3A* 基因的转录调节作用有待于进一步实验证实.

通过对人与小鼠 *SCN3A* 基因启动子区及其上游调控区的分析发现: 它们的核心启动子区有很高同源性和相同的启动子核心元件, 人与小鼠 *SCN3A* 基因启动子区可能结合不同的转录因子. 过去研究表明, 人与小鼠 *SCN3A* 基因的表达情况有差别——小鼠 *SCN3A* 基因只在胚胎发育过程中表达, 而人 *SCN3A* 基因从胚胎直到成年都有表达^[3,5]. 接下来我们将采用启动子缺失分析法分析 *SCN3A* 基因启动子的转录调控元件, 并通过凝胶迁移实验鉴定与调控元件相互作用的转录因子, 结合人和小鼠 *SCN3A* 基因的表达模式的异同与 *SCN3A* 基因启动子区特征的异同进行分析, 以期揭示人与小鼠 *SCN3A* 基因的表达调控机制.

参 考 文 献

- Catterall W A. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 2000, **26**(1): 13~25
- Goldin A L. Diversity of mammalian voltage-gated sodium channels. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, **868**: 38~50
- Brysch W, Creutzfeldt O D, Luno K, *et al.* Regional and temporal expression of sodium channel messenger RNAs in the rat brain during development. *Exp Brain Res*, 1991, **86**(3): 562~567
- Schaller K L, Caldwell J H. Developmental and regional expression of sodium channel isoform NaCh6 in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 2000, **420**(1): 84~97
- Whitaker W R, Faull R L, Waldvogel H J, *et al.* Comparative distribution of voltage-gated sodium channel proteins in human brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 2001, **88**(1~2): 37~53
- Westenbroek R E, Merrick D K, Catterall W A. Differential subcellular localization of the RI and RII Na⁺ channel subtypes in central neurons. *Neuron*, 1989, **3**(6): b695~704
- Kaplan M R, Cho M H, Ullian E M, *et al.* Differential control of clustering of the sodium channels Na (v)1.2 and Na (v)1.6 at developing CNS nodes of Ranvier. *Neuron*, 2001, **30**(1): 105~119
- Gong B, Rhodes K J, Bekele-Arcuri Z, *et al.* Type I and type II Na (+) channel alpha-subunit polypeptides exhibit distinct spatial and temporal patterning, and association with auxiliary subunits in rat brain. *J Comp Neurol*, 1999, **412**(2): 342~352
- Whitaker W R, Clare J J, Powell A J, *et al.* Distribution of voltage-gated sodium channel alpha-subunit and beta-subunit mRNAs in human hippocampal formation, cortex, and cerebellum. *J Comp Neurol*, 2000, **422**(1): 123~139
- Drews V L, Lieberman A P, Meisler M H. Multiple transcripts of sodium channel SCN8A (Na(V)1.6) with alternative 5'- and 3'-untranslated regions and initial characterization of the SCN8A promoter. *Genomics* 2005, **85**(2): 245~257
- Schade S D, Brown G B. Identifying the promoter region of the human brain sodium channel subtype II gene (*SCN2A*). *Brain Res Mol Brain Res*, 2000, **81**(1~2): 187~190
- Farre D, Roset R, Huerta M, *et al.* Identification of patterns in biological sequences at the ALGGEN server: PROMO and MALGEN. *Nucleic Acids Res*, 2003, **31**(13): 3651~3653
- Messeguer X, Escudero R, Farre D, *et al.* PROMO: detection of known transcription regulatory elements using species-tailored searches. *Bioinformatics*, 2002, **18**(2): 333~334
- Shang L L, Dudley S C, Jr. Tandem promoters and developmentally regulated 5'- and 3'-mRNA untranslated regions of the mouse *Scn5a* cardiac sodium channel. *J Biol Chem*, 2005, **280**(2): 933~940
- Martin M S, Tang B, Ta N, *et al.* Characterization of 5' untranslated regions of the voltage-gated sodium channels SCN1A, SCN2A, and SCN3A and identification of *cis*-conserved noncoding sequences. *Genomics*, 2007, **90**(2): 225~235
- Garcia J A, Ou S H, Wu F, *et al.* Cloning and chromosomal mapping of a human immunodeficiency virus 1 "TATA" element modulatory factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**(20): 9372~9376
- Gershenson N I, Ioshikhes I P. Synergy of human Pol II core promoter elements revealed by statistical sequence analysis. *Bioinformatics*, 2005, **21**(8): 1295~1300
- Bloom A J, Miller B R, Sanes J R, *et al.* The requirement for Phr1 in CNS axon tract formation reveals the corticostriatal boundary as a choice point for cortical axons. *Genes Dev*, 2007, **21**(20): 2593~2606
- Tribioli C, Robledo R F, Lufkin T. The murine fork head gene *Foxn2* is expressed in craniofacial, limb, CNS and somitic tissues during embryogenesis. *Mech Dev*, 2002, **118**(1~2): 161~163
- Kim M Y, Jeong B C, Lee J H, *et al.* A repressor complex, AP4 transcription factor and geminin, negatively regulates expression of target genes in nonneuronal cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(35): 13074~13079
- Holler M, Westin G, Jiricny J, *et al.* Sp1 transcription factor binds DNA and activates transcription even when the binding site is CpG methylated. *Genes Dev*, 1988, **2**(9): 1127~1135
- Kim C S, Choi H S, Hwang C K, *et al.* Evidence of the neuron-restrictive silencer factor (NRSF) interaction with Sp3 and its synergic repression to the mu opioid receptor (MOR) gene. *Nucleic Acids Res*, 2006, **34**(22): 6392~6403

Characterization of The Promoter Region and Upstream Regulation Region of Human and Mouse *SCN3A* Gene*

LONG Yue-Sheng, ZHAO Qi-Hua, ZENG Tao, SUN Wei-Wen, LIAO Wei-Ping**

(Institute of Neuroscience and The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Key Laboratory of Neurogenetics and Channelopathies of Guangdong Province and The Ministry of Education of China, Guangzhou 510260, China)

Abstract To characterize the promoter region and upstream regulation region of human and mouse *SCN3A* gene, 5'-Full RACE was performed to identify that the nucleotide "A" was identified as the transcription start site, which locate 27 kb upstream of the translation start site of human *SCN3A* and 31 kb upstream of the translation start site of mouse *SCN3A*. Two 5'-untranslated exons of human *SCN3A* and one 5'-untranslated exon of mouse *SCN3A* were found by sequence blast. The core promoter region (-80 ~ +70) of human *SCN3A* showed 96% nucleotide homology with that of mouse. Two core promoter elements, BRE and TATA, were predicted in the region of -80 ~ +70 from both human and mouse. The transcriptional factors *PHR1*, *GATA-1*, *FOXN2*, *NF-1* and *AP-4* predicted in the region of -400 to +200 of human *SCN3A*, not found in mouse *SCN3A*, and the transcriptional factors *Sp-1*, *Sp-3* and *GBF* predicted in the region of -400 to +200 of mouse *SCN3A*, not found in human *SCN3A*. The comparison between the promoter region of human and mouse *SCN3A* may provide an important clue to explore the mechanisms of the regulations of human and mouse *SCN3A* expression.

Key words transcription start site, voltage-gated sodium channel, *SCN3A*, promoter

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2008.00450

*This work was supported by the grants from The National Natural Science Foundation of China (30600198), The Guangdong Natural Science Foundation (06301101) and The Guangdong Famous Doctor Project (2004-18).

**Corresponding author.

Tel: 86-20-34152625, E-mail: wpliao@tom.com

Received: June 25, 2008 Accepted: August 5, 2008