

診療 (依頼稿)

下垂体前葉ホルモンの遺伝子

大阪大学医学部臨床検査診断学

林 崎 良 英

教授 宮 井 潔

Anterior Pituitary Hormone Genes

Yoshihide HAYASHIZAKI and Kiyoshi MIYAI

Department of Laboratory Medicine, Osaka University Medical School, Osaka

Key words: Glycoprotein hormone • Common α subunit • β subunit • Gene

緒 言

最近の細胞工学的手法とくに遺伝子 DNA の単離, 構造決定, 発現等の進歩には目ざましいものがあり, ホルモン遺伝子についても例外ではなく次々と新知見が得られている. ここでは下垂体前葉ホルモン遺伝子についてまず総論的に述べた後, 産婦人科領域に直接関連のある糖蛋白ホルモンを中心に筆者らの成績も含めて概述することにする.

I. 総 論

1. 下垂体ホルモンの遺伝子構造

下垂体ホルモン遺伝子も他の動物遺伝子と同様の構造機能単位が存在する (図 1). 最終的にメッセンジャー RNA (mRNA) を構成するエクソン (exon) とその間に介在するイントロン (intron) (介在配列) から成る. 調節領域は一般に転写開始点より 20~30bp (base pair) 上流 (5'側) に TATA box (Hogness box) (“タータボックス”) [TATA₄ A₁] が, また 50~70bp 上流に CAAT box (“キャットボックス”) [GG₂ CAATCT] が存在し, これらは RNA ポリメラーゼ II (RNA polymerase II) の認識と関連があるといわれている. 転写開始点 (cap site) から polyadenylation site までは, いくつかのイントロンが介在するが, その位置は各遺伝子により異なる. いずれのイントロンも, その始めと終りの配列はほぼ決まっている (consensus sequence) 正確なスプライシング (splicing) に重要な役割を担っている. すなわち

イントロンの始まりは [G₁₀₀ T₁₀₀ A₅₄ A₆₂ G₈₂ T₅₆] で, 終りは [12Py₄₁₋₆₇ T₅₈ T₆₃ NC₆₇ A₉₇ G₁₀₀] である. ここで G: guanine, A: adenine, C: cytosine, T: thymine, Py: pyrimidine (C または T), N: (G, A, C, T のいずれでもよい) で, 右下の小さな数字は, このような塩基になつてい

る % を表わす.

さてコーディング領域 (coding region) は開始コドン (initiator codon) [ATG] (翻訳された時はメチオニン (Met) となる) から終止コドン (termination codon) [TAA 又は TAG 又は TGA] までである. 以後は 3' 非翻訳領域で, ここでは最終エクソン終末の poly adenylation site から約 30bp 上流にポリ A シグナル (poly A signal) [AATAAA] が存在する.

2. 下垂体ホルモンの生合成過程

下垂体前葉ホルモンも体内の他の殆どすべての構成蛋白と同様の生合成過程をたどる (図 1).

① 遺伝子の転写 (transcription)—DNA の遺伝子情報をもとにして, RNA ポリメラーゼ II の作用により, RNA 鎖が合成される. この様にして合成された RNA はメッセンジャー RNA (mRNA) 前駆体 (hnRNA) と呼ばれる.

② 転写後の修飾 (post transcriptional modification)—mRNA 前駆体よりイントロンが切り取られエクソンがつなぎ合わされる段階をスプライシング (splicing) という. 次に 5' 側の RNA の先端には 7-methyl-guanosine (Me⁷-G) が付加され

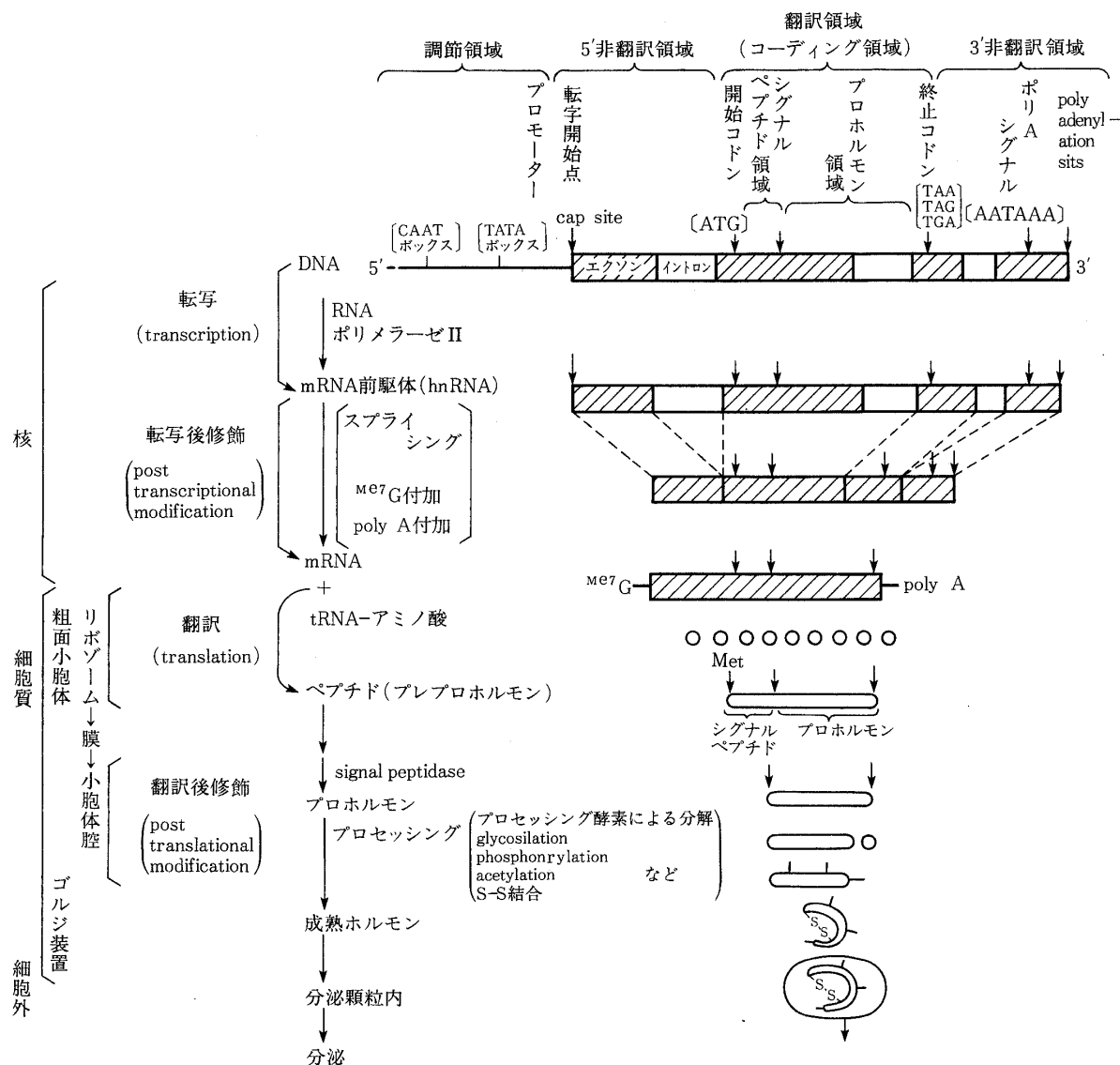


図1 下垂体ホルモンの遺伝子と生合成模式図
エクソン、イントロンの数、位置などはホルモンにより異なる

Cap 構造をつくると共に3'側には poly A が付加し成熟した mRNA になる。

③ 翻訳 (translation)—mRNA は核を出て細胞質内の粗面小胞体上のリボソームで mRNA の遺伝暗号コドンに忠実にペプチドが合成される。翻訳の始まりは開始コドンに対応するメチオニン (Met) からで終止コドンが出現するまで、転移 RNA (transfer RNA) (tRNA) からアミノ酸の供給を受けて 3 個のヌクレオチド (3 トリプレット triplet) ごとに一つのアミノ酸が対応してペプチドが合成される。

④ 翻訳後の修飾 (post translational modification)—このようにしてできたペプチドホル

モンはプレプロホルモン (preprohormone) と呼ばれる。プレプロホルモンは、主として N 端に存在するシグナルペプチド (signal peptide) とプロホルモンから成る。前者はペプチドの輸送先を決定する Zip のようなものである。すなわちホルモンのような内分泌蛋白のシグナルペプチドは、プレプロホルモンが粗面小胞体の膜を通過する際の道づけをし、小胞体腔内に入った後、signal peptidase により切断を受け、プロホルモンを生ずるといわれている。プロホルモンはプロセッシング酵素 (processing enzyme) による分解、S-S 結合、glycosilation, phosphorylation, acetylation C 端 Gly からの carboxyamidation などの修飾を

受け成熟ホルモンとなる。これらは小胞体腔とつながるゴルジ装置へ輸送され、ここで他の蛋白、ATP、アミンなどと一緒に、分泌顆粒にpackagingされた後exocytosisにより分泌される。ただこのような過程のすべてがシグナルペプチドで決定されているのではなく前駆体の全体又は一部の一次構造又は三次構造、すなわち分子の全体のコンフォーメーションや糖鎖なども複雑に絡み合つて影響している様である。

なおホルモン合成の調節も以上の4過程で行いうる。例えばプロラクチン(PRL)に対するエストロゲンの作用¹⁸⁾、甲状腺刺激ホルモン(TSH)に対する甲状腺ホルモンの作用³⁰⁾などは転写段階で、ACTH- β LPH 前駆体のプロセッシングが組織間で異なる²⁸⁾などは翻訳後修飾段階での調節と考えられる。

II. 各 論

(A) 糖蛋白ホルモン遺伝子

卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体形成ホルモン(LH)、胎盤性ゴナドトロピン(hCG)、TSHの四つのホルモンは糖蛋白ホルモンであり、すべて α 鎖と β 鎖のサブユニットが非共有結合した形態をとる。 α 鎖は四つのホルモンに共通で β 鎖が各ホルモンに特有の構造を持ち各々の機能を発揮している。

1. α 鎖(common α)

α 鎖遺伝子の研究は、hCGのcDNAのクローニングから開始された。1976年 Landefeld et al. は¹⁵⁾ wheat germ in vitro translation system にヒト胎盤 mRNA を入れ、抗 hCG- α 抗体を用いて検出することに成功した。1979年 Fiddes et al. は α 鎖 cDNA をクローニングし⁶⁾これをプローブとして、ヒト genomic library から α 鎖遺伝子の単離に成功した⁸⁾。彼らにより明らかにされた構造は、図2に示すように三つのイントロン、四つのエキソンより成る。第1イントロンは5' Cap site より94bp 下流の5'非翻訳領域内にあり、6.4 kbp の長さである。また第2イントロンは、分泌型アミノ酸配列の第6アミノ酸である Asp (以下 Asp⁶と表示)の第1(G)と第2(A)トリプレット間に1.7kbp の長さで存在し、第3イントロンは

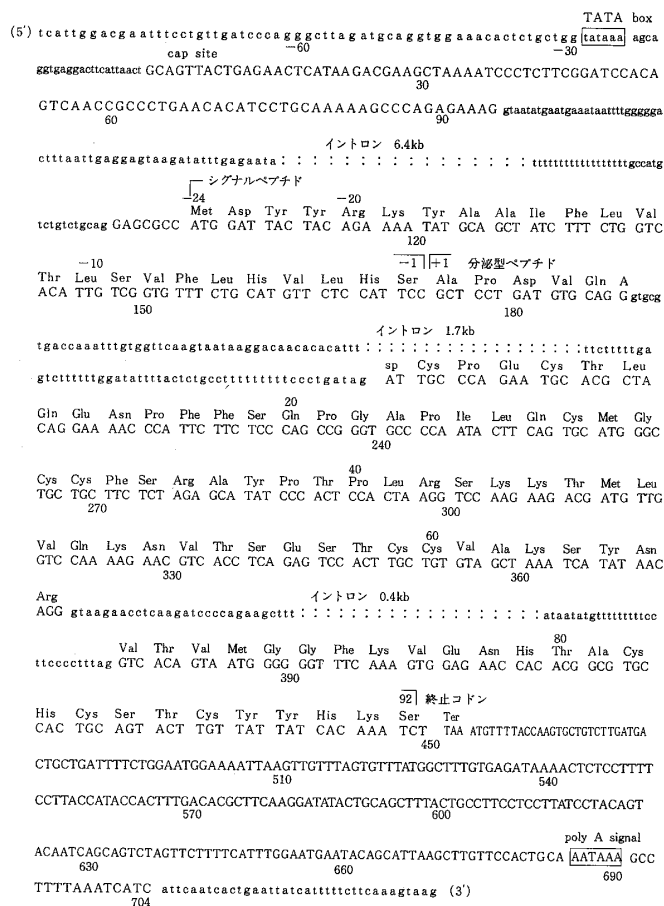


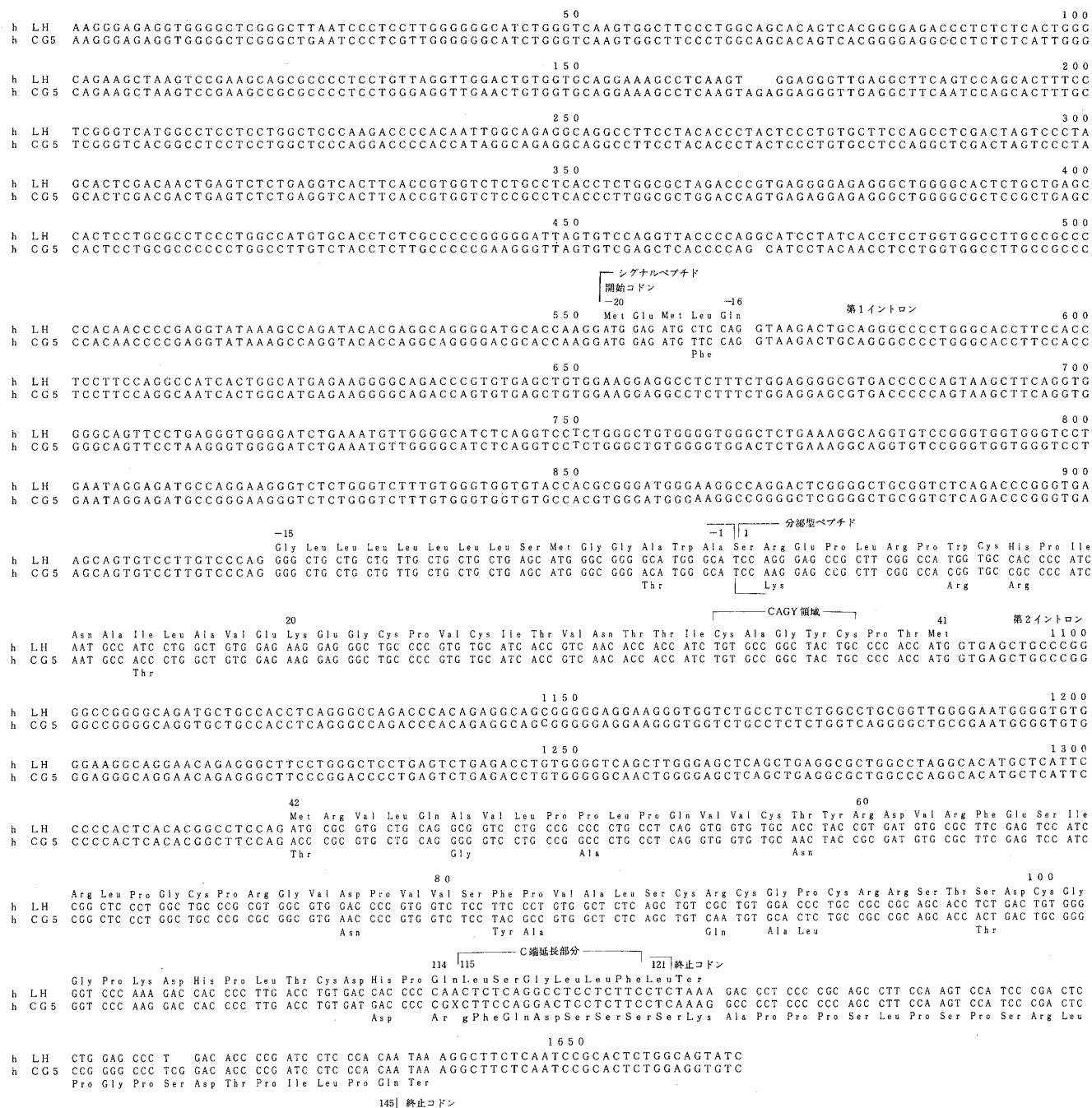
図2 ヒト common α 鎖の遺伝子 (Fiddes et al.⁶⁾より改変)

Arg⁶⁷ Val⁶⁸のコードン間に0.4kbp の長さで存在する。前駆体の構造は、24個のシグナルペプチドに分泌型蛋白の92個のアミノ酸を従えた単純な形をとっている。

2. hLH β , hCG β 鎖

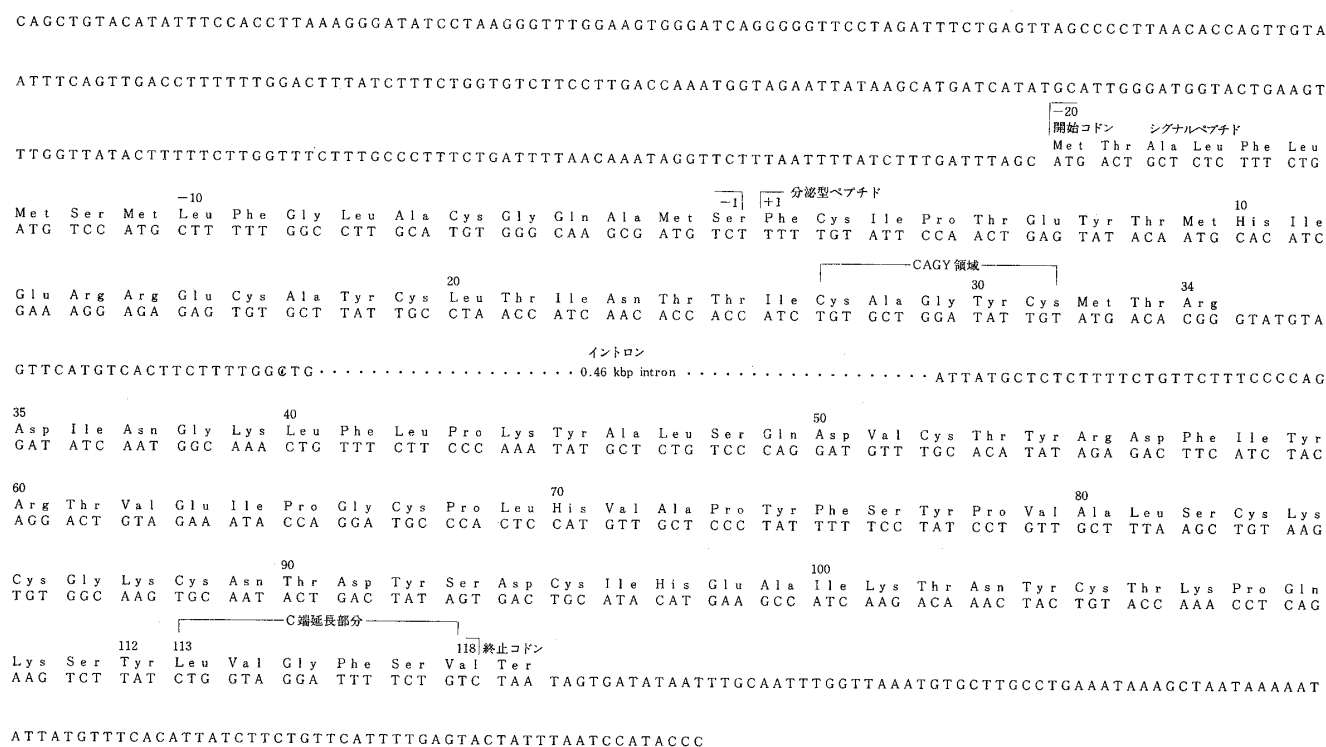
ヒト LH (hLH) と hCG のアミノ酸配列をみるとその82%が同一であることや、両者の機能も似ていることから、これら二つのホルモンの遺伝子は同一の祖先遺伝子(ancestor gene)から進化してきたと考えられていた。従つてその遺伝子構造も似ており、hCG β -cDNA をプローブとして、相補的な結合(ハイブリダイズ hybridize)させる場合、hCG β のみならず hLH β 遺伝子も同時に検出される可能性がある。

さて1980年 Fiddes et al. は妊娠初期のヒト胎盤から hCG β の cDNA をクローニングし⁷⁾、次いでこの cDNA を用いヒト genomic library より hCG β 遺伝子のクローニングに成功した³⁾¹⁰⁾³²⁾(図

図3 hCGβ, hLHβ 鎖の遺伝子 (Talmadges⁹⁾より改変)

3). この際三つのクローンの異なる DNA 断片上に hCGβ-cDNA とハイブリダイズする遺伝子又は偽遺伝子 (pseudogene) と思われる領域が八つ (gene 1~8) 存在したが, これらの遺伝子群は, 後に 1 本の 58kbp EcoRI fragment 上につながって存在することが分つた²⁷⁾. この塩基配列決定により 8 個のうち 1 個 (gene 4) が LHβ 遺伝子である事が確認された. 次に, hLHβ, hCGβ のような multigene family では実際にどの遺伝子が発現

しているかという事が問題となる. さて gene 5 の塩基配列は現在知られている分泌型の authentic hCGβ と全く一致する. これに対し gene 6 は, 一つの塩基が異なっている (substitution). すなわち gene 5 の Asp¹¹⁷ Ser¹¹⁸ [GAC TCC] の部分は, gene 6 では, Ala¹¹⁷ Ser¹¹⁸ [GCC, TCC] となっている. そこで [GANTC] の部分を切断する制限酵素 Hinf I を利用すれば, 前者は切断されるが後者は切断されないで両者の違いを区別できる.

図4 hTSH β 鎖の遺伝子 (Hayashizaki¹³⁾より改変)

そこで胎盤 mRNA より取った別個の cDNA クローン15個を調べると、主としてこの部位に Hinf I site を持つ gene 1, 3, 5 が発現している事が分った。また、gene 3 につき同様の方法で No. 124 ~ 126 の Ava I site を利用し調べると15個のクローン中 2 個の割で発現している事が示された¹⁰⁾³¹⁾。つまり hLH β 遺伝子 (gene 4) を除く 7 個の hCG β 遺伝子中おそらく 1, 3, 5 の遺伝子が主に発現しており gene 2, 6, 7, 8 は偽遺伝子か、わずかな発現しかしていないと思われる。なお、保科ら²⁾は Kruckenberg 腫瘍において hCG β mRNA の産生があつて転写はされているが翻訳されず hCG β 分子が検出できない例を報告しており、このような癌においては gene 2, 6, 7, 8 の遺伝子または偽遺伝子の転写のみが起つている可能性を示唆しており、興味深い。

3. FSH β 鎖

現在クローニングされているようだが詳細な構造は報告されていない。おそらくは一つの遺伝子 (single copy gene) と思われる。

4. TSH β 鎖

Kourides et al. はマウスの TSH 産生腫瘍の培

養細胞系より mRNA を取出し、³⁵S-methionine 存在下、reticulolysate in vitro translation system に入れ抗マウス TSH β 抗体により検出し¹⁴⁾、1983年マウス TSH β -cDNA のクローニングに成功した¹²⁾。また1984年 Maurer et al. はウシ TSH β -cDNA を、同年 Chin et al. はラット TSH β -cDNA を報告している。遺伝子そのものについては、最近まであらゆる動物種で不明であつたが、著者らはヒト TSH (hTSH) β 遺伝子のクローニングに成功し、その構造を明らかにした¹³⁾。図4に示すように hTSH β 遺伝子は二つのイントロンと三つのエキソンから成ると推測される。前駆体の構造は、20アミノ酸のシグナルペプチド、112アミノ酸の分泌型ペプチド (Arg³⁴と Asp³⁵のコードン間に約450bp のイントロンが存在する)、それに6個の比較的疎水性のアミノ酸から成る C 末端延長部分が存在する。この6個のアミノ酸は翻訳後プロセッシングを受けるものと思われる (後述)。

5. 糖蛋白ホルモン遺伝子の比較

① α 鎖遺伝子

以前より糖蛋白ホルモンが共有する α 鎖遺伝

子は各ホルモンごとに別々に存在して、その発現時にそれぞれ調節を受けているのか、それとも一つの遺伝子から発現してくる産物を共有しているのかが問題となる所であつたが、 α 鎖遺伝子は single copy gene である事が分り、一つの遺伝子産物を TSH, LH, FSH, hCG で共有していると判明した⁸⁾。現在の所、ヒト胎盤 mRNA とヒト下垂体 mRNA についての Northern hybridization において、両者はシングルバンドで、しかも同一の長さであることが分つている。これから判断する限り、各ホルモンに特異的な転写の開始や alternative splicing はないものと推察される。また染色体もヒト α 鎖遺伝子が 6 番染色体²⁴⁾、hLH β , hCG β 遺伝子群が 19 番染色体²⁴⁾、TSH β 遺伝子が 1 番染色体^{11,12)}上にあり各遺伝子が全く異なつた染色体に位置する事が分つた。

② β 鎖遺伝子の C 末端延長部分

β 鎖遺伝子には特徴的な共通構造が存在する。それは前駆体の C 末端に存在する比較的疎水性のアミノ酸から成る延長部分(extention)である。TSH β 鎖では、6 個のアミノ酸(図 4)、hLH β では 7 個のアミノ酸(図 3)、で構成される。これらは翻訳後修飾を受けると考えられるが、現在の所その機能はよく分つていない。さて、図 3 に示すように、hLH β の Gln¹¹⁴[CAA]の A が欠失(deletion)した形が hCG β となつている。つまり LH β から hCG β が進化してきた際、この部位の欠失が起り、コドンの frame shift により hLH β なら Gln¹¹⁴[CAA] Leu¹¹⁵[CTC]と続き 122 番目で終止コドン[TAA]となつているのに対し、hCG β では Arg¹¹⁴[CGC] Phe¹¹⁵[TTC]と続き、122 番目の所も終止コドンとならず 146 番目の終止コドン[TAA]の所まで延長してしまつたと考えられる³²⁾。このことは分子進化論的にも大変興味深い。

③ β 鎖遺伝子の相同性(CAGY 領域)

各種糖蛋白ホルモン β 鎖において、アミノ酸と核酸の相同性(ホモロジー-homology)について Harr plot で比較してみた¹³⁾。アミノ酸配列は、hLH β の第 2、第 3 エクソンにかけて 4~5 個の相同性の高い領域がありイントロンの相対的な位

置も一致している。ところが核酸配列において相同性が高く保存されているのは hLH 第 2 エクソンの領域だけである。この部分は hCG β , hLH β (図 3)では 33 番目から 37 番目まで、hTSH β (図 4)では 27 番目から 31 番目までのアミノ酸に相当しその Cys, Ala, Gly, Try, Cys の記号をとつて CAGY 領域と呼ばれる。この部位はアミノ酸、核酸双方で保存されており²⁶⁾、ヒト以外の糖蛋白ホルモンはもちろん、細菌(コレラトキシンなど)やある種の植物トキシンにも存在している。この部分は β 鎖が α 鎖と結合するのに直接影響を与えとか、糖蛋白ホルモンが標的細胞のレセプターを認識するのに必要な領域であるという仮説を支持する実験結果が得られており、ホルモンの機能と考え合わせると非常に興味深い。

(B) 成長ホルモン(GH)、胎盤性ゴナドマノトロピン(hCS)、プロラクチン(PRL)遺伝子群、hGH のアミノ酸配列をみると胎盤で発見された(hCS)とは 85%、PRL と 35%の相同性があり、共通の祖先遺伝子を持つ family を形成している。

1. hGH, hCS

1979 年 Martial et al. 1977 年 Shine et al. によつて hGH¹⁷⁾, hCS²⁹⁾の cDNA がクローニングされ、これらの遺伝子解析の端緒となつた。

これにより genomic fragment が次々とクローニングされ hGH, hCS 関連遺伝子が複数存在することが分つた^{9,19)}。この遺伝子群の基本構造は各々 4 個のイントロンと 5 個のエクソンから成る。

ところで以前より GH には 191 個のアミノ酸から成る 22KhGH が主として存在するが、他に 176 個のアミノ酸から成る 20KhGH も 5~10%は存在することが知られていた¹⁶⁾。遺伝子をみると、同一前駆体 RNA から、異なるスプライシング(alternative splicing)により 22 KhGH と 20 KhGH を発現しており 32 から 46 番目のアミノ酸の付加又は削除が起つているということが、De Noto et al.によつて明らかにされた⁵⁾。

hCS については、hCS と hCS 関連遺伝子が少なくとも 5 個以上知られ、中でも hGH 関連遺伝子ができてから第 1 イントロン又はその近傍で

cross linkage を起したと考えられるようなハイブリッド(hybrid)遺伝子もみつき、これらの遺伝子群は17番染色体 (q 22—24)²⁵⁾に配列している。

2. PRL

1980年 Chien et al.によりラット⁴⁾次いで Turong et al.によりヒト³³⁾の PRL cDNA さらに各々の遺伝子もクローニングされその構造も決定された。PRL はラット、ヒトともに single copy gene でありその構造は GH と類似して 4 個のイントロンと 5 個のエキソンから成る。

3. ACTH- β LPH 遺伝子

ACTH, β LPH (β lipotropin) 前駆体についてはウシ、マウス、ラットの下垂体 mRNA を in vitro translation system で蛋白合成を行うことが始められ、抗 ACTH 抗体により検出された²²⁾。また抗 β endorphin 抗体を用い同じ前駆体 RNA に β LPH の構造を含む事が判明した²¹⁾。次に下垂体 mRNA より本前駆体 mRNA を均一にまで精製し、cDNA クローニングを行い前駆体の全 1 次構造の決定がなされた²⁰⁾。これは 265 個のアミノ酸より成り MSH (melanocyte stimulating hormone) のドメイン (domain) の 3 回のくり返し構造が基本となつている。

ACTH と β LPH は二つの塩基性アミノ酸でつながり、翻訳後プロセッシングされる。ACTH, β LPH は C 末側にあり、ACTH はさらに、 α MSH と CLIP (corticotropin-like intermediate lobe peptide), β LPH は γ LPH と β endorphin に分れる。N 末側には α MSH や β MSH と類似構造をもつ γ MSH (MSH 生理活性に必須である His-Phe-Arg Trp 構造を含む) が存在する。この γ MSH を含む N-terminal peptide が、この前駆体の前半を占める。次にこの cDNA を用い、ACTH- β LPH の遺伝子が決定された²³⁾。

おわりに

以上下垂体前葉ホルモンの遺伝子について糖タンパクホルモンを中心に概説した。紙面の関係上、意を盡せないところも少なくないが、詳しくは成書、原著を参照されたい。

文 献

1. 林崎良英, 宮井 潔, 松原謙一: 先天性 TSH 単独欠損症. 日本臨床化学会年会記, 25: 11, 1985.
2. 保科 眞, 房 正規, 西尾明彦, 望月眞人: In situ hybridization による hCG β 発現細胞の同定. 内分泌誌, 62: 441, 1986.
3. Boorstein, W.R., Vamvakopoulos, N.C. and Fiddes, J.C.: Human chorionic gonadotropin β -subunit is encoded by at least eight genes arranged in tandem and inverted pairs. Nature, 300: 419, 1982.
4. Chien, Y.-H. and Thompson, E.B.: Genomic organization of rat prolactin and growth hormone genes. Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A., 77: 4583, 1980.
5. DeNoto, F.M., Moore, D.D. and Goodman, H.M.: Human growth hormone DNA sequence and mRNA structure: Possible alternative splicing. Nucleic. Acids. Res., 9: 3719, 1981.
6. Fiddes, J.C. and Goodman, H.M.: Isolation, cloning and sequence analysis of the cDNA for the α -subunit of human chorionic gonadotropin. Nature, 281: 351, 1979.
7. Fiddes, J.C. and Goodman, H.M.: The cDNA for the β -subunit of human chorionic gonadotropin suggests evolution of a gene by readthrough into the 3'-untranslated region. Nature, 286: 684, 1980.
8. Fiddes, J.C. and Goodman, H.M.: The gene encoding the common alpha subunit of the four human glycoprotein hormones. J. Molecular Applied Genetics, 1: 3, 1981.
9. Fiddes, J.C., Seeburg, P.H., DeNoto, F.M., Hallewell, R.A., Baxter, J.D. and Goodman, H.M.: Structure of genes for human growth hormone and chorionic somatomammotropin. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 76: 4294, 1979.
10. Fiddes, J.C. and Talmadge, K.: Structure, expression, and evolution of the genes for the human glycoprotein hormones. Rec. Progr. Horm. Res., 40: 43, 1984.
11. Fukushige, S., Murotsu, T. and Matsubara, K.: Chromosomal assignment of human genes for gastrin, thyrotropin (TSH)- β subunit and C-erbB-2 by chromosome sorting combined with velocity sedimentation and Southern hybridization. Biochem. Biophys. Res. Commun., 134: 477, 1986.
12. Gurr, J.A., Catterall, J.F. and Kourides, I.A.: Cloning of cDNA encoding the pre- β subunit of mouse thyrotropin. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80: 2122, 1983.

13. Hayashizaki, Y., Miyai, K., Kato, K. and Matsubara, K.: Molecular cloning of the human thyrotropin- β subunit gene. *FEBS Lett.*, 188: 394, 1985.
14. Kourides, I.A., Vamvakopoulos, N.C. and Maniatis, G.M.: mRNA-directed biosynthesis of α and β subunits of thyrotropin. *J. Biol. Chem.*, 254: 11106, 1979.
15. Landefeld, T.D., McWilliams, D.R. and Boime, I.: The isolation of mRNA encoding the alpha subunit of human chorionic gonadotropin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 72: 381, 1976.
16. Lewis, U.J., Dunn, J.T., Bonewald, L.F., Seavey, B.K. and VanderLaan, W.P.: A naturally occurring structural variant of human growth hormone. *J. Biol. Chem.*, 253: 2679, 1987.
17. Martial, J.A., Hallewell, R.A., Baxter, J.D. and Goodman, H.M.: Human growth hormone: Complementary DNA cloning and expression in bacteria. *Science*, 205: 602, 1979.
18. Maurer, R.A.: Estradiol regulates the transcription of the prolactin gene. *J. Biol. Chem.*, 257: 2133, 1982.
19. Moore, D., Conkling, A. and Goodman, H.M.: Human growth hormone: A multigene family. *Cell*, 29: 285, 1982.
20. Nakanishi, S., Inoue, A., Kita, T., Nakamura, M., Chang, A.C.Y., Cohen, S.N. and Numa, S.: Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin- β -lipotropin precursor. *Nature*, 278: 423, 1979.
21. Nakanishi, S., Inoue, A., Taii, S. and Numa, S.: Cell-free translation product containing corticotropin and β -endorphin encoded by messenger RNA from anterior lobe and intermediate lobe of bovine pituitary. *FEBS Lett.*, 84: 105, 1977.
22. Nakanishi, S., Taii, S., Hirata, Y., Matsukura, S., Imura, H. and Numa, S.: A large product of cell-free translation of messenger RNA coding for corticotropin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.A.*, 73: 4319, 1976.
23. Nakanishi, S., Teranishi, Y., Watanabe, Y., Notake, M., Noda, M., Kakidani, H., Jingami, H. and Numa, S.: Isolation and characterization of the bovine corticotropin β -lipotropin precursor gene. *Eur. J. Biochem.*, 115: 429, 1981.
24. Naylor, S.L., Chin, W.W., Goodman, H.M., Lalley, P.A., Grzeschik, K.H. and Sakaguchi, A. Y.: Chromosome assignment of genes encoding the α and β subunits of glycoprotein hormones in man and mouse. *Somatic. Cell Genetics*, 9: 757, 1980.
25. Owerbach, D., Rutter, W.J., Martial, J.A., Baxter, J.D. and Shows, J.B.: Genes for growth hormone, chionic somatomammotropin, and growth hormone-like gene on chromosome 17 in humans. *Science*, 209: 289, 1980.
26. Pierce, J.G. and Parsons, T.F.: Glycoprotein hormones: Structure and function. *Ann. Rev. Biochem.*, 50: 465, 1981.
27. Policastro, P.F., Daniels-McQueen, S., Carle, G. and Boime, I.: A map of the hCG β -LH β gene cluster. *J. Biol. Chem.*, 261: 5907, 1986.
28. Roberts, J.L., Chen, C.-L.C., Dionne, F.T. and Gee, C.E.: Peptide hormone gene expression in heterogeneous tissues. *Trends. Neuroscience*, 5: 314, 1982.
29. Shine, J., Seeburg, P.H., Martial, J.A., Baxter, J. D. and Goodman, H.M.: Construction and analysis of recombinant DNA for human chorionic somatomammotropin. *Nature*, 270: 494, 1977.
30. Shupnik, M.A., Chin, W.W., Habener, J.F. and Ridgway, E.C.: Transcriptional regulation of the thyrotropin subunit genes by thyroid hormone. *J. Biol. Chem.*, 260: 2900, 1985.
31. Talmadge, K., Boorstein, W.R., Vamvakopoulos, N.C., Gething, M.-J. and Fiddes, J.C.: Only three of the seven human chorionic gonadotropin beta subunit genes can be expressed in the placenta. *Nucl. Acids. Res.*, 12: 8415, 1984.
32. Talmadge, K., Vamvakopoulos, N.C. and Fiddes, J.C.: Evolution of the genes for the β -subunits of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. *Nature*, 307: 37, 1984.
33. Truong, A.T., Duez, C., Belayew, A., Renard, A., Pictet, R., Bell, G. and Martial, J.A.: Isolation and characterization of the human prolactin gene. *EMBO J.*, 3: 429, 1984.