

Проблемы, связанные с биосинтезом ДНК (репликацией, репарацией, обратной транскрипцией), наряду с транскрипцией и трансляцией, относятся к кардинальным разделам молекулярной и клеточной биологии. Процессы биосинтеза ДНК широко изучаются на физико-химическом и химическом уровнях, в бесклеточных и клеточных системах во многих лабораториях мира, в том числе и в СССР. В нашей стране такие исследования в различных аспектах проводили в отдельных группах и лабораториях, до настоящего времени они не координировались и тем более не объединялись общей программой. Для улучшения информации между рабочими группами, обмена идеями и экспериментальными приемами, а также координации и кооперации в исследованиях в октябре 1984 года в г. Гатчине на базе Ленинградского института ядерной физики АН СССР под руководством академика Д. Г. Кнорре было проведено первое рабочее совещание под названием «Молекулярная биология матричного синтеза ДНК». На совещании свои работы представили ряд институтов АН СССР, АМН СССР, АН УССР, ТССР, университетов и других научных учреждений. Основные доклады, прочитанные на совещании, решено было опубликовать в настоящем номере журнала «Биополимеры и клетка»*, чтобы научная общественность страны могла ознакомиться с состоянием названной проблемы в СССР и узнать о существовании координации исследований. Принято решение проводить подобные совещания по теме один раз в два года.

УДК 577.213:576.316

РЕПЛИКОННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ: КРИТИЧЕСКИЙ РАЗБОР ФАКТОВ И ГИПОТЕЗА

Н. А. Ляпунова

В настоящее время мы располагаем обширной информацией о молекулярных механизмах репликации ДНК, полученной в основном при изучении вирусов и бактерий, для которых молекулярные исследования могут проводиться одновременно с генетическим анализом. Изучение репликации ДНК генома эукариот в большей мере заключалось в анализе цитологическими методами митотического цикла, закономерностей прохождения клетками фазы синтеза ДНК (S-фазы), последовательности репликации хромосом и их частей. В последние годы увеличился интерес к репликации генома эукариот с позиций молекулярной биологии в связи с накоплением фактов в области энзимологии и особенностей работы репликативной вилки в клетках эукариот. Специфический круг вопросов возникает в связи с организацией репликации больших молекул ДНК в составе эукариотических хромосом.

В диплоидном геноме большинства млекопитающих содержится до 7 пг ДНК. Общая длина молекул ДНК около 180 см. На одну хромосому, например у человека ($2n=46$), в среднем приходится молекула

* Три следующие статьи будут дополнительно опубликованы в шестом номере журнала.

ДНК длиной до 4 см. ДНК генома высших организмов функционально неоднородна. Существует несколько типов хроматина, отличающихся составом ДНК и белка, структурной упаковкой и функциями, которые они выполняют в жизненном цикле клетки. В цитогенетических терминах это эухроматин (в активной и неактивной форме) и гетерохроматин.

Универсальным свойством хромосом большинства высших организмов является чередование по длине блоков хроматина с некоторыми контрастными свойствами, благодаря чему их удается различить в митотических хромосомах с помощью специальных методов окраски [1]. В хромосомах всех животных и человека отчетливо выделяются G^- , G^+ (Гимза-отрицательные, Гимза-положительные) и С-блоки. В G^- -блоках сконцентрирована ДНК активно транскрибируемых генов [2—4]. С-блоки соответствуют генетически инертному структурному гетерохроматину. Можно предположить, что в G^+ -блоках хромосом локализована ДНК, занимающая промежуточное положение по транскрибируемости между G^- - и С-блоками [5]. В ранней профазе митоза в гаплоидном наборе хромосом человека удается определить до 3 000 отдельных G^- , G^+ - и С-блоков [6]. Это значит, что средний блок содержит отрезок молекулы ДНК длиной всего около 300 мкм. Прочно установленным фактом является последовательность репликации частей хромосом в ходе S-периода, длящегося в разных тканях (кроме ранних эмбриональных) теплокровных животных 6—10 ч. Репликация начинается в G^- -блоках, затем в нее вступают G^+ -блоки, а позже — С-блоки [7].

Чтобы описать репликацию хромосом во времени, надо охарактеризовать: 1) размер единиц репликации (репликонов); 2) скорость движения вилок репликации; 3) положение точек инициации и термации репликации на молекулах ДНК; 4) согласованность работы репликонов во времени. Первые три параметра можно анализировать прямым методом, используя радиоавтографию молекул ДНК. Этот метод был предложен Кэрнсом для визуализации репликации молекул ДНК клеток *HeLa* [8], а Хюберман и Риггс дали первое описание параметров репликонов клеток *HeLa* и китайского хомячка [9]. В современном виде метод состоит в том, что клетки в стадии синтеза ДНК инкубируют определенное время с меченым тритием тимидином. Затем клетки лизируют и освобожденные от белка молекулы ДНК распластывают на поверхности предметного стекла. После тщательной промывки препараты покрывают фотоэмульсией и экспонируют в темноте 6—8 месяцев. На проявленных радиоавтографах в световом микроскопе можно наблюдать цепочки зерен серебра, лежащие над участками молекул ДНК, реплицировавшимися в течение инкубации клеток с радиоактивным предшественником. Описанный метод, с одной стороны, обладает большой наглядностью, с другой — допускает высокий субъективизм в выборе информативных меченых фрагментов, которые могут быть взяты для анализа.

На вопрос, как организованы репликоны в хромосомах эукариот, в настоящее время нет однозначного исчерпывающего ответа. Тем не менее существует уже прочно укоренившаяся концепция характеристики репликонов в клетках животных и растений, сложившаяся после первых работ Хюбермана и Риггса [9], дополненная в ряде последующих исследований и суммированная в обзорах [10—12]. Согласно этим представлениям репликация ДНК высших эукариот осуществляется в репликонах, объединенных конец-в-конец в кластеры (танделы, серии), каждый кластер содержит 10—15 и более репликонов. Основная масса репликонов имеет размеры 15—100 мкм при средних значениях 30—50 мкм. В пределах кластера репликоны вступают в репликацию относительно синхронно. В подавляющем большинстве случаев, если не всегда, репликация молекул ДНК в пределах одного репликона осуществляется двумя вилками репликации, движущимися в противоположные стороны от точки инициации репликации. Средняя ско-

рость движения вилки репликации зависит от температуры, в клетках геплокровных она составляет 0,6—0,8 мкм/мин.

Исходя из этих данных следует признать, что время, необходимое для репликации одного кластера репликонов, не превышает 30 мин, т. е. 1/15 часть времени S-периода. Для обеспечения непрерывного синтеза ДНК в S-периоде постоянно должны инициироваться новые кластеры репликонов. В целом репликацию генома должны осуществлять более 50 000 ед. репликации, из них одновременно в среднем должна работать 1/15 часть или 3 000—4 000 репликонов (6 000—8 000 вилок репликации). Как уже отмечалось, эта концепция широко распространена. Однако имеющиеся в нашем распоряжении факты позволяют внести ряд существенных изменений в описанную схему.

Прежде всего критического рассмотрения заслуживает способ измерения размера репликонов. По сложившейся традиции размер репликонов определяют как расстояние между соседними точками инициации репликации. Для этого на радиоавтографах находят лежащие на одной линии меченые фрагменты ДНК и измеряют либо расстояние между их центрами (если меченый тимидин вводили в культуру одновременно со снятием блока синтеза ДНК), либо между центрами соседних симметричных двухфазно меченных фрагментов (сначала ^3H -тимидином с высокой, а затем с более низкой удельной активностью). При этом включение ^3H -тимидина проводят в течение относительно короткого времени: 15—30, реже 45—60 мин, так как при увеличении времени инкубации значительная часть треков на радиоавтографах сливается в сплошные меченые тяжи. Это принято трактовать как результат завершения репликации соседних репликонов в кластерах и объединения их в одну непрерывно меченую молекулу ДНК.

Критический анализ опубликованных данных и наши экспериментальные результаты привели нас к следующим заключениям. Вывод о существовании в основном мелких репликонов в клетках млекопитающих и человека (30—50 мкм) — это результат методически неправильного подхода к оценке размеров репликонов. Относительно короткая длительность метки, при которой образуются короткие меченые фрагменты ДНК, не позволяет исключить из анализа продольно слипшиеся молекулы ДНК. Действительно, диаметр зерен серебра в фотоэмульсии равен 0,5—1 мкм, а диаметр молекулы ДНК — 2 нм. Это значит, что под линейно расположенными треками зерен серебра могут лежать до 250—500 молекул ДНК, слипшихся бок-о-бок. Если в этом пучке окажется больше чем одна меченая молекула, то принадлежащие им меченые фрагменты на радиоавтографе будут лежать на одной прямой линии и восприниматься как кластеры. Описанная здесь ситуация поясняется схемой на рис. 1 (подробнее об этом см. [13, 14]). Дополнительным свидетельством того, что кластеры меченых фрагментов на радиоавтографах являются методическим артефактом и определения размеров репликонов на их основе абсолютно неправомерны, могут служить опубликованные данные, согласно которым размеры репликонов зависят от размера меченых фрагментов в кластерах, а следовательно, от длительности инкубации клеток с меченым тимидином (!). На рис. 2 в графической форме представлены данные из работы [15], посвященной анализу репликонов у амфибий, и из работы [16], выполненной специально с целью проверки предположения об артефактности кластеров репликонов. Можно видеть линейную зависимость измеряемого размера репликонов от размера меченых фрагментов независимо от объекта исследования. Разбавление меченых молекул ДНК добавлением перед приготовлением препаратов 100—1 000-кратного количества ДНК из немеченых клеток резко снижает вероятность попадания в пучок слипшихся молекул ДНК нескольких меченых молекул. В результате на таких препаратах практически отсутствуют меченые фрагменты, аранжированные в кластеры (см. рис. 4, с в [17]).

Анализ радиоавтографов, полученных после инкубации клеток с ^3H -тимидином в течение 3 ч в режиме: 30 или 60 мин ^3H -тимидин с

высокой удельной активностью («горячая» метка), а затем 150 или 120 мин соответственно — с низкой удельной активностью («прохлажденная» метка), позволил сделать принципиально иной вывод. Основная масса единиц репликации в геноме человека и теплокровных животных имеет размеры 100—200 мкм и более. В отдельных случаях уда-

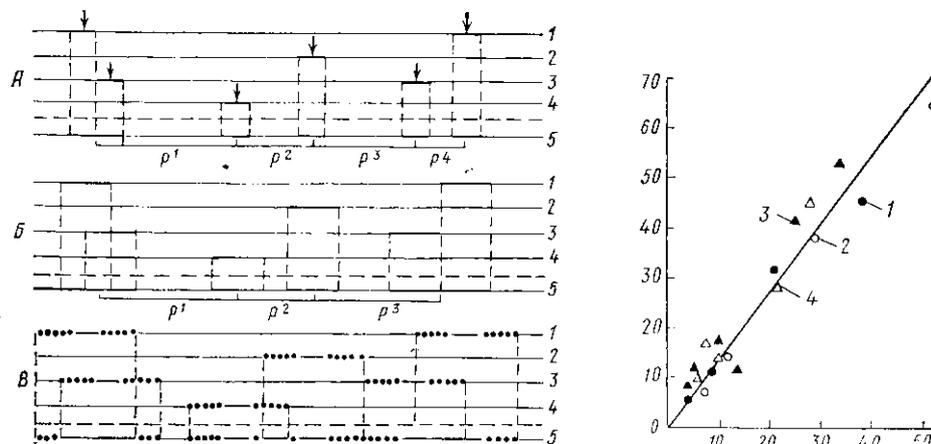


Рис. 1. Схема, иллюстрирующая образование на препарате «кластеров» меченых фрагментов ДНК. А — четыре молекулы ДНК (1—4), на каждой из которых имеется 1 или 2 коротких меченых фрагмента, лежат бок-о-бок в одном пучке. На радиоавтографе (5) они проецируются на одну прямую линию, образуя «кластер», в котором можно различить 5 отдельных меченых фрагментов. При включении метки одновременно с началом репликации в центре каждого фрагмента находится точка инициации репликации (стрелки). В таком кластере будут измерены 4 репликона — $P1, P2, P3, P4$. Б — та же модель, но длительность метки в 2 раза больше. В результате меченые фрагменты в 2 раза длиннее и на радиоавтографе (5) обнаружатся только четыре отдельных меченых фрагмента. Могут быть измерены только три репликона — $P1, P2, P3$, средний размер которых больше, чем в случае А. Если те же фрагменты фланкированы более слабой меткой (В), то в результате сложения фрагментов на радиоавтографе возникнет меченая последовательность, не позволяющая провести анализ.

Fig. 1. Scheme illustrating formation of «clusters» of labelled DNA fragments at cytological preparation. А — four DNA molecules (1—4) are arranged side-by-side close together, each having one or two short labelled fragments. At the autoradiograph they are projected on a line (5), simulating a tandem of replicons (cluster) with five discrete labelled fragments. If the beginning of the label administration and replication coincides, starting points of replication are in the centre of each fragment (arrows). Four replicons ($P1-P4$) will be measured in such a cluster. (B) — the same model but the time of label incorporation is twice as much. As a result the labelled fragments are twice as long and an autoradiograph shows only four discrete labelled fragments. Only three replicons ($P1-P3$) can be measured, their average size being longer in comparison with А. When the labelled fragments are flanked by a «warm» label (B) superimposing of the fragments results in a labelled sequence (5) which cannot be analyzed.

Рис. 2. Зависимость между средними размерами меченых фрагментов (абсцисса, мкм) и средними расстояниями между центрами соседних меченых фрагментов в кластерах (ордината, мкм): 1 — фибробласты человека; 2 — клетки китайского хомячка [16]; 3 — жаба (*Bufo cognatus*); 4 — тритон (*Triturus viridescens*) [15]. Значение каждой точки по абсциссе — среднее из 100 [16] или 400 [15] измерений; по ординате — из 100 [16] или 60—300 [15] измерений.

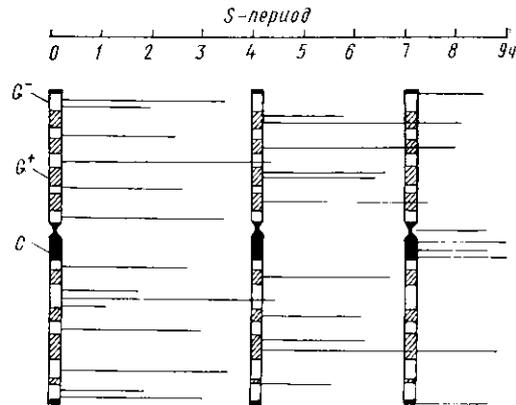
Fig. 2. The relationship between average sizes of the labelled fragments (abscissa, μm) and average centre-to-centre distances between the neighbouring labelled fragments in clusters (ordinate, μm): 1 — human fibroblasts, 2 — Chinese hamster cells [16], 3 — *Bufo cognatus*, 4 — *Triturus viridescens* [15]. Every point on abscissa is the mean value from 100 [16] or 400 [15] measurements, and from 100 [16] or 60-300 [15] measurements on ordinate.

ется наблюдать полные репликоны размером 400—600 мкм [16, 18]. При этом репликоны, как правило, не организованы в кластеры. Лишь в редких случаях (3—5% подлежащих анализу репликонов) можно видеть на одной молекуле рядом два-три (но не более) одновременно работающих репликона [18]. При средней скорости движения вилки репликации 0,6 мкм/мин репликация больших репликонов должна протекать в течение 1,5—4 ч и более. Был проведен анализ гетероген-

ности скорости роста синтезируемой цепи ДНК в пределах одной гомогенной культуры клеток. Известно, что, например, в клетках человека при среднем значении 0,6 мкм/мин скорость синтеза молекулы ДНК в одной вилке репликации варьирует от 0,2 до 1,2 мкм/мин, а в клетках китайского хомячка — от 0,3 до 1,5 мкм/мин при среднем

Рис. 3. Схема, иллюстрирующая организацию репликации хромосомы в течение S-периода. Горизонтальными линиями показано число репликонов, с помощью которых реплицируется каждый функциональный блок хромосомы (G⁻, G⁺ или C) и время, в течение которого работает репликон. Остальные объяснения в тексте.

Fig. 3. Scheme illustrating organization of the chromosome replication during S-phase. The horizontal lines indicate the number of the replicons which realize replication of every functional chromosome block (G⁺, G⁻, C) and the time of replicon operation. Other explanations are given in the text.



значении 0,8 мкм/мин [18]. Такие 5—6-кратные изменения существенно перекрывают ошибку измерения меченых фрагментов на радиоавтографах, которая не превышает 15%. При анализе скорости движения вилки репликации в разные интервалы времени в ходе синхронного S-периода в клетках китайского хомячка [19] и человека [20] было показано, что средняя скорость увеличивается в ходе S-периода и во второй половине его она в 2—3 раза выше, чем в первой.

Сопоставление размеров репликонов (100—200 мкм и более) с размером фрагмента ДНК, заключенного в одном функциональном (G⁺ или G⁻) блоке хромосом (около 300 мкм), позволяет предположить, что каждый такой блок реплицируется как один или два-три (но не более) репликона. Репликация всего генома будет обеспечиваться не более чем 10000 ед. репликации.

На основании приведенных выше фактов мы можем предложить модель организации репликации эукариотического генома (рис. 3). Согласно этой модели функциональные блоки хромосом реплицируются как единое целое, каждому блоку соответствует один или два-три репликона. В начале S-периода происходит инициация репликации всех репликонов, принадлежащих G⁻-блокам. В последующие 3—4 ч S-периода идет элонгация молекул ДНК и постепенная терминация первой порции репликонов. На 3—4-м ч S-периода иницируются репликоны в G⁺-блоках, в конце S-периода в репликацию вступают репликоны C-блоков.

Синхронная инициация трех порций репликонов и постепенная терминация их должны отразиться в неравномерной интенсивности синтеза ДНК по ходу S-периода, которую можно зарегистрировать по интенсивности включения ³H-тимидина. Действительно, такая неравномерность существует [21, 22]. В ходе синхронной S-фазы в диплоидных клетках млекопитающих выявляются три пика разной интенсивности. Индивидуальность пиков выражена тем яснее, чем больше длительность S-периода.

Основным предположением, лежащим в основе предложенной схемы репликации генома эукариот, является сгруппированность актов инициации репликации в ходе S-периода в три ограниченных интервала времени, разделенных протяженными (2—4 ч) отрезками времени, в течение которых осуществляется только элонгация репликонов. Это положение требует экспериментального доказательства, получение которого однозначно подтвердит существование больших репликонов и

ошибочность концепции кластеров мелких репликонов. Наиболее реальным подходом к решению этой проблемы должно быть использование специфических ингибиторов инициации репликации. Первые попытки таких исследований с использованием рентгеновского облучения [22] и блеомицина [23] дали обнадеживающие результаты.

Предлагаемая модель облегчает поиск механизма регуляции определенной последовательности вступления в репликацию частей генома. Достаточно предположить существование трех разных белков-инициаторов, появляющихся в ядре в определенное время в S-периоде, способных инициировать потенциальные точки начала репликации в хроматине с разным характером упаковки. Известны факты, делающие реальным такое предположение. В большом амебодном плазмодии гриба *Physarum* синхронно развиваются миллионы ядер. S-период длится около 7 ч. После включения в ДНК вместо тимидина в течение определенного интервала времени бромдезоксигидина градиентным центрифугированием удается разделить рано- и поздне-реплицирующиеся части генома. Если перенести ядра, находящиеся в раннем S-периоде, в плазмодий на стадии позднего S-периода, то в «ранних» S-ядрах преждевременно (на 2 ч раньше срока) начинается репликация поздней части генома [24]. В любом случае поиск должен быть направлен на специфические генетические продукты, появляющиеся в критические фазы S-периода. Существование на границе G₁—S, в середине и во второй половине S-периода критических интервалов, когда синтез ДНК чувствителен к подавлению синтеза мРНК и белка, показано экспериментально [25].

Интересно заметить, что скорость движения данной вилки репликации остается постоянной по крайней мере в течение 3 ч [18]. Это может означать, что скорость определяется скорее характером хроматина, в составе которого находится репликон, чем внутриядерными факторами, такими, как пул нуклеотидов или количество молекул ферментов, участвующих в репликации, количество и активность которых, как известно, заметно изменяются в ходе периода синтеза ДНК.

Тот факт, что активно транскрибируемая ДНК реплицируется в начале S-периода с относительно низкими скоростями движения вилки репликации, может иметь большой генетический смысл, так как чем ниже скорость полимеразной реакции, тем меньше вероятность ошибок репликации. Напротив, при больших скоростях репликации можно ожидать повышенную вероятность ошибок. Возможно, это является одной из причин высокой изменчивости нуклеотидного состава ДНК гетерохроматина и гетерогенности ее даже у родственных видов.

REPLICON ORGANIZATION OF THE GENOME OF HIGHER ORGANISMS: CRITICAL ANALYSIS OF FACTS AND HYPOTHESIS

N. A. Liapunova

Institute of Medical Genetics, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Summary

The size measurement of replication units (replicons) by the method of DNA-fibre autoradiography is critically analyzed. It is shown that the conception of «clusters of small replicons (30-50 μm)» is untenable. The model for organization of eucaryotic chromosome replication is suggested. This model is based on the known temporal order of replication of the functional chromosome blocks (G⁻→G⁺→C) and on the existence of large replicons (100-200 μm and more) being approximately equal to DNA fragments in one average-size functional block (300 μm). The model is also based on the assumption that the replicon initiations are grouped at three discrete short time intervals disrupted by prolonged time intervals during which only DNA chain elongation and replicon termination occur. The model explains uneven DNA synthesis during the S-period and facilitates a search of mechanisms for genetic control of the replication time sequence of different genome parts.

1. Хромосомы человека: Атлас / А. Ф. Захаров, В. А. Бенюш, Н. П. Кулешов, Л. И. Барановская.— М.: Медицина, 1982.—261 с.
2. Yunis J. J., Tsai M. Y. Mapping of polysomal messenger RNA and heterogeneous nuclear RNA to the lightly staining G-bands of human chromosomes.— *Cytogenet. and Cell Genet.*, 1978, 22, N 1/6, p. 364—367.
3. Ляпунова Н. А., Хаитова Н. М. Репликация ДНК активных генов в геноме млекопитающих в начале S-периода.— Докл. АН СССР, 1979, 244, № 4, с. 997—1000.
4. Ono T., Okada S. DNase I digestion of early, middle and late S phase replicating DNA in murine leukemia L5178y cells.— *Biochim. et biophys. acta*, 1981, 655, N 1, p. 113—116.
5. Replication timing of genes and middle repetitive sequences / M. A. Goldman, G. P. Holmquist, M. C. Gray et al.— *Science*, 1984, 224, N 4650, p. 686—692.
6. Bak A. L., Jorgensen A. L., Zeuthen J. Chromosome banding and compaction.— *Hum. Genet.*, 1981, 57, N 1, p. 199—202.
7. Zakharov A. F., Egolina N. A. Correlation between pattern of DNA replication and chromosome banding.— *Biol. Zbl.*, 1976, 95, p. 327—334.
8. Cairns J. Autoradiography of HeLa cell DNA.— *J. Mol. Biol.*, 1966, 15, N 3, p. 372—373.
9. Huberman J. A., Riggs A. D. On the mechanism of DNA replication in mammalian chromosomes.— *Ibid.*, 1968, 32, N 3, p. 327—341.
10. Callan H. G. Replication of DNA in the chromosomes of eukaryotes.— *Proc. Roy. Soc. London B*, 1972, 181, p. 19—41.
11. Edenberg H. J., Huberman J. A. Eukaryotic chromosome replication.— *Annu. Rev. Genet.*, 1975, 9, p. 245—284.
12. Hand R. Eukaryotic DNA: organization of the genome for replication.— *Cell*, 1978, 15, N 2, p. 317—325.
13. Ananiev E. V., Polucarova L. G., Yurov Yu. B. Replication of chromosomal DNA in diploid *Drosophila melanogaster* cells cultured *in vitro*.— *Chromosoma*, 1977, 59, N 4, p. 259—270.
14. Юров Ю. Б., Ляпунова Н. А. Скорость репликации ДНК и размеры репликонов в диплоидных клетках человека.— *Молекуляр. биология*, 1976, 10, № 5, с. 1085—1093.
15. Wilson B. G. DNA replication in the *Amphibia*.— *Chromosoma*, 1975, 51, N 3, p. 213—224.
16. Yurov Yu. B. Do clusters of replication units in the mammalian cells exist?— *Exp. Cell Res.*, 1979, 123, N 3, p. 369—374.
17. Callan H. G. DNA replication in the chromosomes of eukaryotes.— In: *Molecular Cytogenetics* / Eds B. A. Hamkalo, J. Papaconstantinou. New York: Plenum publ. corp., 1973, p. 31—47.
18. Yurov Yu. B., Liapunova N. A. The units of DNA replication in the mammalian chromosomes: Evidence for a large size of replication units.— *Chromosoma*, 1977, 60, N 4, p. 253—267.
19. Housman D., Huberman J. A. Changes in the rate of DNA replication fork movement during S phase in mammalian cells.— *J. Mol. Biol.*, 1975, 94, N 2, p. 173—181.
20. Хаитова Н. М., Ильина Г. С., Ляпунова Н. А. Организация репликации генома млекопитающих: данные о высокой скорости репликации ДНК в репликалах структурного гетерохроматина.— *Цитология*, 1980, 22, № 6, с. 640—645.
21. Kapp L. N., Painter R. B. Multiple thymidine incorporation peaks in the S phase of synchronous human diploid fibroblasts.— *Exp. Cell Res.*, 1977, 107, N 3, p. 429—431.
22. Kapp L. N., Painter R. B. X-ray inhibition of DNA synthesis at discrete times during S phase in synchronous human diploid fibroblasts.— *Radiat. Res.*, 1982, 89, N 3, p. 424—427.
23. Ляпунова Н. А., Лаврушина О. М., Дулатова Ш. Н. Использование блеомицина для демонстрации сгруппированности актов инициации репликации в ДНК в S-фазе митотического цикла в культуре клеток человека.— В кн.: VIII Всесоюз. симпоз. «Структура и функции клеточного ядра»: Тез. докл. Пушино, 1984, с. 269—270.
24. Wille J. J., Kauffman S. A. Premature replication of late S period DNA region in early S nuclei transferred to late S cytoplasm by fusion in *Physarum polycephalum*.— *Biochim. et biophys. acta*, 1975, 407, N 2, p. 158—173.
25. Епифанова О. И. Изучение регуляторных механизмов митотического цикла с помощью ингибиторов трансляции и транскрипции.— В кн.: Клеточный цикл. М.: Наука, 1973, с. 72—103.

Ин-т мед. генетики АМН СССР, Москва

Получено 22.01.85