

**EUR 4526 i**

**COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE**

**RAPPORTO FINALE SULLE ATTIVITÀ DEL GRUPPO EURATOM  
PER LE RADIAZIONI E LA CITOGENETICA UMANA  
DELL'UNIVERSITÀ DI PAVIA**

**(1 aprile 1963 - 31 marzo 1968)**

**LIBRARY**

**1970**



**Relazione elaborata dalla  
Università di Pavia - Italia**

**Contratto Euratom N. 023-63-2 BIOI**

## AVVERTENZA

Il presente documento è stato elaborato sotto gli auspici della Commissione delle Comunità Europee.

Si precisa che la Commissione delle Comunità Europee, i suoi contraenti, o qualsiasi altra persona che agisca in loro nome :

non garantiscono l'esattezza o la completezza delle informazioni contenute nel presente documento, né che l'uso di qualsiasi informazione, dispositivo, metodo o processo, descritti nel presente documento, non arrechino pregiudizio ai diritti sulle opere dell'ingegno e sulle invenzioni industriali;

non assumono alcuna responsabilità per i danni che dovessero risultare dall'uso di informazioni, dispositivi, metodi o processi descritti nel presente documento.

La presente relazione può essere acquistata presso gli uffici di vendita indicati nella quarta pagina della copertina

al prezzo di Lit. 500,-	FF 4,45	FB 40,-	DM 3,-	Fl 3,-
-------------------------	---------	---------	--------	--------

**All'atto dell'ordinazione, si prega di menzionare il riferimento EUR e il titolo che figurano sulla copertina di ciascuna relazione.**

Stampato da Smeets s.a., Bruxelles  
Lussemburgo, Settembre 1970

Per la riproduzione di questo documento ci si è serviti della miglior copia disponibile.

**EUR 4526 i**

**COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE**

**RAPPORTO FINALE SULLE ATTIVITÀ DEL GRUPPO EURATOM  
PER LE RADIAZIONI E LA CITOGNETICA UMANA  
DELL'UNIVERSITÀ DI PAVIA**

**(1 aprile 1963 - 31 marzo 1968)**

**EUR 4526 i**

FINAL REPORT ON THE WORK OF THE EURATOM STUDY  
GROUP ON RADIATION AND HUMAN CYTOGENETICS OF  
THE UNIVERSITY OF PAVIA (1 April 1963 - 31 March 1968)

Commission of the European Communities  
Report prepared by the University of Pavia (Italy)  
Euratom Contract No. 023-63-2 BIOI  
Luxembourg, September 1970 - 20 Pages - FB 40,-

Main research subjects : in vitro cultures of somatic cells for the study of cell markers. Cellular effect of actinomycin. Continuous irradiation of cells in vitro. Human cytogenetics. Method of replicating chromosome DNA by means of marked precursors; chromosome variability in tumour cell populations; duplication of chromosome DNA in tumour cells. Main results : autoradiograph demonstration that actinomycin is preferentially localised on the nucleus and its chromosomes and produces chromosome ruptures. Demon-

**EUR 4526 i**

FINAL REPORT ON THE WORK OF THE EURATOM STUDY  
GROUP ON RADIATION AND HUMAN CYTOGENETICS OF  
THE UNIVERSITY OF PAVIA (1 April 1963 - 31 March 1968)

Commission of the European Communities  
Report prepared by the University of Pavia (Italy)  
Euratom Contract No. 023-63-2 BIOI  
Luxembourg, September 1970 - 20 Pages - FB 40,-

Main research subjects : in vitro cultures of somatic cells for the study of cell markers. Cellular effect of actinomycin. Continuous irradiation of cells in vitro. Human cytogenetics. Method of replicating chromosome DNA by means of marked precursors; chromosome variability in tumour cell populations; duplication of chromosome DNA in tumour cells. Main results : autoradiograph demonstration that actinomycin is preferentially localised on the nucleus and its chromosomes and produces chromosome ruptures. Demon-

## RIASSUNTO

Principali ricerche : colture in vitro di cellule somatiche per lo studio di marcatori cellulari. Effetto cellulare dell'antibioattinomicina. Irradiazione continua di cellule in vitro. Citogenetica umana. Modalità di replicazione del DNA cromosomico mediante uso di precursori marcati; variabilità cromosomica in popolazioni di cellule tumorali; duplicazione del DNA cromosomico in cellule tumorali. Risultati principali : dimostrazione autoradiografica della localizzazione preferenziale sul nucleo e sui cromosomi della attinomicina e sua produzione di rotture cromosomiche. Dimostrate granulazioni metacromatiche nel citoplasma di fibroblasti coltivati in vitro da soggetti con sindrome di Moquio e di Hurler. Irradiazione continua a bassa dose con acqua tritiata in cellule in vitro diminuisce numero medio di cellule per colonia. Impostato l'impiego di un calcolatore elettronico per automatizzare l'analisi del cariotipo umano. Descritte numerose anomalie cromosomiche anche con analisi dei cromosomi meiotici.

Studiando la replica dei cromosomi di *Drosophila melanogaster* è stata scoperta corrispondenza fra la localizzazione genetica della eterocromatina ed i segmenti cromosomici che duplicano in ritardo il loro DNA. In vari mammiferi è stato dimostrato che l'Y delle cellule spermatogoniali è asincrono nella duplicazione.

La variabilità cariotipica è stata studiata in popolazioni cellulari da carcinomi ovarici; gli stessi tumori sono stati studiati dopo trattamento citostatico e ne è stato messo in evidenza l'effetto selettivo. La duplicazione del DNA cromosomico di cellule tumorali, mette in evidenza una loro più lenta capacità riproduttiva se paragonata con quella di cellule normali presenti nello stesso campione cellulare.

## PAROLE CHIAVE

TISSUES  
IN VITRO  
METABOLISM  
ANIMAL CELLS  
GENETICS  
CYTOLOGY  
MAN  
CHROMOSOMES  
DNA  
MITOSIS  
SEX  
SPERM  
LABELLED COMPOUNDS

TUMORS  
ACTINOMYCIN  
ANTIBIOTICS  
RADIOAUTOGRAPHY  
TISSUE CULTURES  
IRRADIATION  
TRITIUM COMPOUNDS  
REPRODUCTION  
THYMIDINE  
NUCLEOSIDES  
DROSOPHILA  
SULFUR 35

RAPPORTO FINALE SULLE ATTIVITA' DEL GRUPPO EURATOM  
PER LE RADIAZIONI E LA CITOGNETICA UMANA  
DELL'UNIVERSITA' DI PAVIA \*)

Il Gruppo Euratom ha iniziato l'attività di ricerca vera e propria nell'estate 1963, dopo una prima fase di lavoro organizzativo e di sistemazione dei locali messi a disposizione da questa Università presso l'Istituto di Anatomia Patologica della Facoltà di Medicina. La direzione del Gruppo è stata assunta dal Dr. M. Fraccaro, funzionario dell'Euratom che all'atto della assunzione esercitava la sua attività a Oxford, Gran Bretagna.

L'attività scientifica del Gruppo si è articolata lungo diverse linee di ricerca, accomunate da un filo conduttore unico, che nello spirito del contratto, è stato quello di provvedere conoscenze approfondite di citogenetica umana e sperimentale quale premessa fondamentale alla conoscenza ed alla stima degli effetti delle radiazioni ionizzanti su vari sistemi mitotici e meiotici.

L'attività scientifica principale è documentata da 70 pubblicazioni scientifiche (vedi elenco in appendice) alle quali si fa riferimento nella sintesi che segue.

1 - RICERCHE DI COLTURA IN VITRO DI CELLULE SOMATICHE

a) Effetto dell'attinomicina (pubblicazioni 11, 14, 30, 37).

E' stato studiato l'effetto dell'antibiotico attinomicina sul ceppo cellulare stabilizzato EUE, usando diversi metodi compreso quello dei cloni cellulari. L'antibiotico arresta la crescita cellulare già a dosi molto basse. E' stato studiato anche l'effetto sulla morfologia cellulare con

---

\*) Manoscritto ricevuto il 27 gennaio 1969

dimostrazione che il nucleolo è affetto selettivamente. Si è ottenuta la prima dimostrazione autoradiografica della localizzazione preferenziale delle attinomicine A e D nel nucleo e sui cromosomi, mediante l'uso di attinomicina tritiata, allora ottenuta per la prima volta per via biologica dal Prof. O. Ciferri dell'Università di Pavia. Durante la ricerca si è scoperto che l'attinomicina produce rotture cromosomiche ed il fenomeno è stato studiato anche quantitativamente.

b) Marcatore cellulari (21, 29, 56, 65).

Si è dimostrato che la fitoemagglutinina ha la capacità di agglutinare aspecificamente vari tipi di cellule coltivate in vitro. L'osservazione che il fenomeno è in parte reversibile indica la possibilità di usare queste sostanze per l'identificazione di marcatori cellulari in colture in vitro.

Si è ottenuta la prima osservazione della presenza di granulazioni metacromatiche nel citoplasma di fibroblasti coltivati in vitro ottenuti da soggetti con sindrome di Morquio, rivelando così l'esistenza di un marcatore cellulare potenzialmente utile per studi genetici in vitro. Negli stessi fibroblasti e in quelli provenienti da soggetti con sindrome di Hurler si è dimostrato mediante autoradiografia che la localizzazione del solfato <sup>35</sup>S corrisponde a quella della metacromasia.

In coltura a lungo termine è stata studiata la variabilità dei diversi cariotipi in mosaici cromosomici di vario tipo. Di rilievo la dimostrazione che l'isocromosoma X è stabile in vitro, fatto che indica una sua efficiente meccanica di divisione.

2.- RICERCHE DI RADIOBIOLOGIA (7, 46).

Si è usata acqua tritiata come mezzo per ottenere irradiazione continua a bassa dose di cellule di linea coltivate in vitro. I parametri usati per stimare l'effetto della radiazione sono stati l'efficacia di piastramento e dimensione dei cloni cellulari data come numero medio di cellule per clone.

Tale metodo ha permesso di mettere in evidenza effetti in genere non evidenziabili. Con una dose di 30 rads/24 h non vi è differenza con i controlli usando la efficacia di piastramento al 15° giorno di trattamento, ma una differenza significativa nelle "dimensioni clonali" è stata messa in evidenza già al 6° giorno, indicante un rallentamento nella crescita della popolazione irradiata.

### 3 - RICERCHE DI CITOGENETICA UMANA

#### a) Il cariotipo dell'uomo (8, 10, 38, 43, 57, 70).

Vari problemi generali di citogenetica umana sono stati trattati nelle pubblicazioni 8, 10, 38.

I dettagli morfologici del bivalente XY dell'uomo come appare alla diacinesi e metafase della prima divisione meiotica sono stati studiati per la prima volta e hanno permesso di indicare che la modalità di associazione dei due cromosomi è braccio lungo Y-braccio corto X.

In collaborazione con l'Istituto di Biometria dell'Università di Milano (Prof. G. A. Maccacaro) si è affrontato il problema della automatizzazione dell'analisi del cariotipo umano mediante calcolatore elettronico. Il Gruppo Euratom fornisce in questa ricerca la competenza citologica. Per questi problemi si sono avuti contatti anche con il centro di calcolo del centro Comune di Ricerche di Ispra.

Il Dr. Fraccaro è stato tra i firmatari della nuova nomenclatura per la standardizzazione in Citogenetica Umana elaborata alla "Chicago Conference: Standardization in human cytogenetics (57).

#### b) Anomalie dei cromosomi del sesso (1, 2, 3, 4, 9, 13, 17, 22, 28, 42, 47, 49, 50).

Si è contribuito con varie ricerche alla definizione del primo esempio di anomalia di struttura del cromosoma X nell'uomo, l'isocromosoma per le braccia-lunghe dell'X già scoperto da Fraccaro & Lindsten nel 1960.

Mediante lo studio di famiglie informative con questa anomalia si è ottenuto evidenza che i geni per il gruppo sanguigno Xg sono probabilmente sul braccio corto del cromosoma X.

Si è dimostrato che il contenuto medio di DNA, stimato fotometricamente, della cromatina del sesso è proporzionale alla quantità di materiale cromosomico presente nel cromosoma X. La stessa proporzionalità si è dimostrata per l'area dei "drumsticks" dei polimorfonucleati. Si è giunti a queste conclusioni studiando anomalie di struttura per eccesso (isocromosomi) e per difetto (delezioni) del cromosoma X. Si è così dimostrato indirettamente la validità dell'ipotesi che è tutto il cromosoma X che forma il corpo di Barr.

Si sono studiati in dettaglio vari casi di anomalie dello sviluppo sessuale nell'uomo con particolare riguardo al problema dell'interazione fenotipo - cariotipo e quello del ruolo del cromosoma Y nel controllo dello sviluppo sessuale.

c) Anomalie degli autosomi (10, 12, 19, 23, 26, 32, 39, 45, 59, 61, 66). In collaborazione con il gruppo del Dr. J. Lindsten dell'Ospedale Karolinska di Stoccolma si sono studiati diversi casi di anomalie numeriche e strutturali degli autosomi a livello meiotico. Si è potuto così pubblicare il primo esempio nella specie umana di traslocazione reciproca tra due autosomi diagnosticata anche a livello meiotico mediante l'evidenziazione di quadrivalenti alla diacinesi di spermatociti primari.

In un altro caso si è diagnosticata mediante la visualizzazione dei cromosomi meiotici una traslocazione reciproca che non era evidente, e perciò non diagnosticabile, nei cromosomi mitotici. Lo studio di questa famiglia ha inoltre permesso di rivelare la possibile localizzazione del locus per il gruppo sanguigno Kidd su uno dei due autosomi (il N° 2) implicati nella traslocazione.

Un ulteriore indicativo esempio è quello del reperimento nelle varie fasi del ciclo meiotico di un piccolo cromosoma soprannumerario diagnosticato in precedenza nelle cellule somatiche di un soggetto di sesso maschile. Questo caso mette in rilievo per la prima volta l'importanza dello studio dei cromosomi meiotici per le prognosi genetiche.

E' stata descritta una nuova "malattia cromosomica", la presenza di un piccolo cromosoma soprannumerario in tre soggetti con coloboma dell'iride e atresia anale. Tale ricerca è stata eseguita in collaborazione con il Dr. W. Schmid, Zurigo. L'accertamento dei tre casi, è avvenuto indipendentemente, due a Zurigo e uno (familiare) a Pavia, e questo fatto è indicativo della relazione diretta tra cariotipo e fenotipo.

#### 4 - RICERCHE SULLA MODALITA' DI REPLICAZIONE DEL DNA CROMOSOMICO MEDIANTE USO DI PRECURSORI MARCATI (2, 15, 20, 33, 44, 51, 52, 53, 55, 58, 62, 63, 64, 68, 69).

##### a) Cromosomi dell'uomo.

Un gruppo di ricerche ha indagato le modalità di duplicazione dei cromosomi X in casi di anomalie di numero e di struttura. In complesso queste ricerche hanno permesso di determinare con sicurezza il fatto che quando un cromosoma X è strutturalmente anormale (isocromosomi, delezioni, anelli) o presente in eccesso del numero normali esso è sempre "caldo", cioè duplica il suo DNA in maniera asincrona rispetto al resto del complemento. Queste ricerche fecero prevedere importanti peculiarità nel ciclo biologico dei cromosomi del sesso nei mammiferi, come in seguito ampiamente confermato.

E' stata eseguita una ricerca qualitativa e quantitativa sulle modalità di replicazione dei cromosomi 21-22 in cellule da individui mosaici per la trisomia 21. L'uso di popolazioni miste di cellule trisomiche e normali è risultato metodologicamente rilevante in quanto il confronto

tra i due tipi cellulari avviene in ambiente e condizioni sperimentali costanti. Si è concluso che se pure vi è una distribuzione di  $3 \neq 2$  nella marcatura dei 5 cromosomi presenti nelle cellule trisomiche vi è pure un notevole grado di "confounding" e perciò i dati autoradiografici sui cromosomi del gruppo G vanno interpretati con cautela.

b) Cromosomi somatici di *Drosophila melanogaster*

Queste ricerche sono eseguite in collaborazione con il gruppo del Prof. C. Barigozzi dell'Università di Milano, che ha messo a punto un metodo per la coltivazione in vitro di cellule embrionali. I cromosomi somatici sono stati marcati in cellule coltivate in vitro a breve termine. In questa ricerca, che è la prima del genere, si è rivelata una quasi perfetta corrispondenza tra localizzazione genetica della eterocromatina e segmenti cromosomici che replicano in ritardo. Infatti, nelle cellule maschili il cromosoma Y, le regioni centromeriche dell'X e degli autosomi II e III sono "caldi". Per di più si è riscontrato che i due cromosomi IV sono con tutta probabilità "replicatori tardi", risultato questo di notevole interesse. Lo stesso tipo di pattern si è riscontrato anche nelle cellule femminili, nelle quali i due cromosomi X sono sincroni tra di loro. Si è anche eseguito uno studio di marcatura in vivo, iniettando larve ed eseguendo i preparati direttamente da gangli cerebrali, e i risultati sono stati in accordo con quelli ottenuti in vitro. E' stata iniziata anche uno studio di diverse traslocazioni implicanti il cromosoma Y e autosomi in diverse condizioni di contiguità tra eterocromatina dell'Y ed eu- ed eterocromatina degli autosomi. Tali ricerche erano in pieno svolgimento allo scadere del contratto.

c) Cromosomi del sesso in cellule somatiche e della linea germinale di vari mammiferi.

Il ciclo di duplicazione dei cromosomi del sesso del cane è stato studiato in vivo e in vitro. Gli esperimenti di marcatura del midollo osseo hanno dimostrato, per la prima volta, che l'X "caldo" è un fenomeno presente anche in vivo e non solo in vitro. Si è fatto anche notare che la cellula del cane è un ottimo strumento per lo studio del cromosoma X che è in questa specie morfologicamente individuabile.

Un gruppo di ricerche sulle modalità di replicazione dei cromosomi del sesso nelle mitosi spermatogoniali e la comparazione con altri sistemi cellulari nello stesso animale ha dato questi risultati principali. 1) Il cromosoma Y degli spermatogoni è l'ultimo a terminare la sintesi ed è estremamente asincrono nelle seguenti specie: topo, ratto, Apodemus flavicollis e Apodemus sylvaticus, hamster Siriano (Mesocricetus auratus) e hamster Cinese (Cricetulus griseus). La costanza e la diffusione del fenomeno indicano un suo importante significato biologico che merita ulteriore approfondimento. Nel topo e nel ratto la comparazione della cronologia e della modalità di replicazione del DNA cromosomico in cellule somatiche e della linea germinale ha rivelato differenze nella durata del periodo  $G_2$  tra cellule di diversi sistemi marcate in vivo. Questo sia entro la stessa specie che entro lo stesso individuo. Evidenti anche differenze tra specie diverse. Confronti sono stati eseguiti in parallelo anche con cellule coltivate in vitro. Notevole qui il fatto che il cromosoma Y è negli spermatogoni molto più "caldo" di quanto non sia nelle cellule somatiche degli stessi animali coltivate in vitro.

E' stato compiuto un dettagliato studio autoradiografico di una traslocazione X/autosoma in una mucca. Si è trovato che ad essere consistentemente caldo non era il cromosoma X strutturalmente abnorme (come di regola si trova nell'uomo) ma bensì il cromosoma X normale. Questa traslocazione si comporta cioè come la traslocazione di Searle nel topo. Il risultato è di notevole importanza nel quadro del significato biologico generale della cronologia di replica del cromosoma X.

Uno studio quantitativo della modalità di replicazione dei cromosomi del sesso della renna (Rangifer tarandus) ha permesso di determinare con notevole precisione la cronologia di replicazione nella ultima ora del periodo S. Si è sfruttato in questa ricerca il fatto che il cromosoma X di questa specie è morfologicamente individuabile. Il cromosoma Y è stato invece per la prima volta individuato mediante questo studio autoradiografico. Di notevole interesse è il rilievo che il cromosoma X di questa specie è del tipo "duplicato", cioè è circa il 10 per cento in lunghezza del totale del complemento. Fino ad ora tale situazione era stata trovata solo nei cricetidi. Durante la stessa ricerca si è anche potuto eseguire uno studio dei cromosomi meiotici della renna.

5 - RICERCHE SULLA VARIABILITA' CROMOSOMICA DI POPOLAZIONI DI CELLULE TUMORALI E SULLA REPLICA DEL DNA CROMOSOMICO IN CELLULE TUMORALI (24, 25, 34, 36, 40, 41, 54, 55, 62, 67).

In una serie di pubblicazioni vengono descritti tre aspetti di un possibile approccio ad una migliore conoscenza della variabilità cromosomica dei tumori. La variabilità cariotipica è stata analizzata in una serie di carcinomi ovarici nella fase finale (in genere ascitica) ma non trattati, dato questo raro in letteratura. Dove possibile è stato analizzato l'effetto

del trattamento terapeutico citostatico sulla dinamica cromosomica degli stessi tumori, sia durante che dopo il trattamento stesso. E' stato così rilevato che il trattamento ha ulteriore effetto selettivo nella popolazione cellulare in genere, però senza effetti a lungo termine. E' stata studiata la permanenza in colture in vitro di cellule tumorali e gli aspetti morfologici delle cellule coltivate sono stati confrontati con quelli delle cellule del tumore di origine. Due casi a sè stanti hanno fornito indicazioni interessanti per il problema generale della storia naturale dei tumori. In un caso di carcinoma ovarico non trattato è stata messa in rilievo un'elevata frequenza di rotture e riarrangiamenti cromosomici in atto. Il fenomeno è stato osservato sia direttamente in liquido ascitico e nel pezzo solido che dopo coltura in vitro. Questo dimostra che il fenomeno stesso è "spontaneamente" ricorrente e fa parte del "fenotipo" di questo tumore.

In un caso di cistoadenoma papillifero dell'ovario, istologicamente di tipo benigno con qualche segno di atipia, colture a breve termine di cellule derivate dal tumore hanno rivelato la presenza di tre linee cellulari con cariotipo normale, con un extra cromosoma X C e con due extra cromosomi C. Questa chiara evidenza di incipiente evoluzione clonale ha fatto ritenere di aver colto in questo caso la manifestazione cromosomica di un'iniziale evoluzione verso la malignità, in accordo con il quadro istologico. Questa è la prima dimostrazione di evoluzione clonale in un tumore che non appartiene al gruppo delle neoplasie del sangue.

La replicazione del DNA a livello cromosomico è stata studiata in cellule tumorali marcate in vivo, dopo breve incubazione ed in coltura in vitro. E' stato così dimostrato per la prima volta la possibilità tecnica di eseguire ricerche di questo genere. La cronologia di replica di cellule

tumorali e cellule normali presenti negli stessi versamenti ascitici sono state tra loro comparate e si è dimostrato che le cellule tumorali hanno una più lenta capacità riproduttiva delle cellule normali. A livello cromosomico sono stati dimostrati caratteristici "blocchi" caldi anormali (in rispetto ai cromosomi normali) e questo indica che alla notevole anarchia cariotipica corrisponde una anarchia della replica del DNA cromosomico con interi segmenti cromosomici "caldi". Di interesse è stata la osservazione che le cellule femminili cariotipicamente normali che si trovano nei versamenti ascitici tumorali dimostrano la presenza dell'X "caldo".

Publicazioni scientifiche eseguite nell'ambito del Contratto Euratom-Università di Pav

- 1 Evidence that Xg blood group genes are on the short arm of the X chromosome. (J. Lindsten, M. Fraccaro, P.E. Polani, J.L. Hamerton, R. Sanger, R.R. Race) *Nature*, 197: 648-649, 1963.
- 2 Tritiated thymidine incorporation in an isochromosome for the long arm of the X chromosome in man. (S. Muldal, C.W. Gilbert, L.G. Lajtha, J. Lindsten, J. Rowley, M. Fraccaro) *Lancet*, i: 861-863, 1963.
- 3 Presumptive isochromosomes for the long arm of X in man. Analysis of five families. (J. Lindsten, M. Fraccaro, D. Ikkos, K. Kaijser, H.P. Klinger, R. Luft). *Ann. hum. Genet.*, 26: 383-405, 1963.
- 4 Iso-chromosomes X in man. (M. Fraccaro, J. Lindsten) *Proc. XI Int. Congress Genet.*, 1: 302-303, 1963.
- 5 Problemi di citogenetica umana. (M. Fraccaro). *Atti Ass. Genet. It.*, 9: 3-37, 1964.
- 6 Concepts of random mating and the frequency of consanguineous marriages. (M. Fraccaro) / *Proc. Royal Soc. B*, 159: 174-175, 1963.

- 7 Effetti biologici delle radiazioni ionizzanti. (M. Fraccaro, L. Tiepolo)/  
Pathologie-Biologie, 11: 1171-1178, 1963.
  
- 8 Il fattore tecnico nello studio dei cromosomi umani. (M. Fraccaro)  
Proc. II Int. Congr. of Hum. Genet., 1154-1159, 1964.
  
- 9 Size of drumsticks in patients with abnormalities of the X-chromosome.  
(M. Fraccaro, J. Lindsten, U. Mittwoch, L. Zonta) Lancet, ii: 43-44,  
1964.
  
- 10 Endoreduplication of chromosomes. (M. Fraccaro, J. Lindsten).  
Lancet, ii: 822, 1964.
  
- 11 Breakage of chromosomes induced by actinomycin. (L. Tiepolo, A.  
Mannini, M. Fraccaro). Mamm. Chrom. Newsl., N. 14, pp. 50-51, 1964.
  
- 12 Cytogenetics - Panel Discussion. Second International Conference  
on Congenital Malformations. The International Medical Congress,  
Ltd., New York 1964, Session 1, pp. 69-70.
  
- 13 The nature, origin and genetic implications of structural abnormal-  
ities of the sex chromosomes in man. (M. Fraccaro, J. Lindsten).  
Cytogenetics of Cells in Culture, pp. 97-110, 1964.
  
- 14 Tritium-labelled actinomycin. Preparation and cytological distribu-  
tion in human cells cultured in vitro. (O. Ciferri, M. Fraccaro, A.  
Albertini, G. Cassani, A. Mannini, L. Tiepolo). Symp. on the Bio-  
medical use of Labelled Molecules, Venice, 1964, pp. 147-163.
  
- 15 DNA replication patterns of canine chromosomes in vivo and in vitro.  
(M. Fraccaro, I. Gustavsson, M. Hultén, J. Lindsten, A. Mannini,  
L. Tiepolo). Hereditas, 52: 265-270, 1964.

- 16 Intensities of selection in nomadic and settled Lapps. (I. Barrai, M. Fraccaro). *Folia Hered. Pathol.*, 14: 1-6, 1964.
- 17 Citogenetica dei cromosomi del sesso nell'uomo. (M. Fraccaro). *Atti Soc. Ital. Patol.*, pp. 337-366, 1965.
- 18 J.B.S. Haldane. (M. Fraccaro) *Atti Ass. Genet. It.*, 10: 19-21, 1965.
- 19 Meiotic and mitotic studies of a familial reciprocal translocation between two autosomes of group 6-12. (J. Lindsten, M. Fraccaro, H.P. Klinger, P. Zetterqvist). *Cytogenetics*, 4: 45-64, 1965.
- 20 A late-duplicating chromosome in spermatogonial mitosis of the mouse (M. Fraccaro, M. Hultén, J. Lindsten, L. Tiepolo). *Exp. Cell Res.*, 38: 675-677, 1965.
- 21 Agglutinating capacity of a non-specific lectin (phytohaemagglutinin) on diploid and heteroploid human cells in culture. (A. Mannini, M. Fraccaro). *Exp. Cell Res.*, 38: 678-679, 1965.
- 22 DNA content and area of sex chromatin in subjects with structural and numerical aberrations of the X chromosome. (H.P. Klinger, J. Lindsten, M. Fraccaro, I. Barrai, Z.J. Dolinar). *Cytogenetics*, 4: 96-116, 1965.
- 23 Chromosomes in coloboma and anal atresia. (G. Schachenmann, W. Schmid, M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo, G.P. Perona, E. Sartori). *Lancet*, ii: 290, 1965.
- 24 Analisi della variabilità cariotipica in un caso di neoplasia ovarica. (M. Fraccaro, M. Gerli, L. Tiepolo; C. Zara). *Minerva Ginecologica*, 17: 485-492, 1965.

- 25 High frequency of spontaneous recurrent chromosome breakage in an untreated human tumour. (M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo, C. Zara). *Mutation Research*, 2: 559-561, 1965.
- 26 La sindrome della voce da gatto. (S. Cavalieri, G. Mastella, L. Tiepolo). *Il Fracastoro*, Anno LVII, N. 6, pp. 369-381, 1964.
- 27 Analisi di un caso di pseudoermafroditismo maschile accertato alla età di 67 anni. (L.E. Piotti, C. Mazzi, G.R. Locatelli, L. Tiepolo). *Giornale di Gerontologia*, Anno XIII, pp. 455-472, 1965.
- 28 Cytogenetical and clinical investigations in four subjects with anomalies of sexual development. (M. Fraccaro, J. Lindsten, H.P. Klinger, L. Tiepolo, C.G. Bergstrand, K.M. Herrlin, A. Livaditis, M. Pehrson, K.G. Tillinger). *Ann. hum. Genet.*, 29: 281-304, 1966.
- 29 Persistence of the isochromosome in long term cultures from an XO/X-isochromosome X mosaic. (M. Fraccaro, A. Mannini), *Atti Ass. Genet. It.*, 11: 403-409, 1966.
- 30 Incorporazione della attinomicina tritiata nelle cellule del ceppo EUE. (M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo, A. Albertini). *Atti Ass. Genet. It.*, 11: - 1966.
- 31 Colloquium on the role and behaviour of sex chromosomes in mammalian development and reproduction: Basel, May 6-8, 1965. *Eugen. Quart.*, 13: 152-154, 1966.

- 32 Extra minute chromosome in somatic and germ-line cells of the same person. (Maj Hultén, J. Lindsten, M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo). *Lancet*, ii: 22-24, 1966.
- 33 In vitro study of the DNA replication patterns of somatic chromosomes of *Drosophila melanogaster*. (C. Barigozzi, S. Dolfini, M. Fraccaro, G. Rezzonico Raimondi, L. Tiepolo). *Exp. Cell Res.*, 43: 231-234, 1966.
- 34 Studi citogenetici in una serie di carcinomi ovarici prima del trattamento. (A. Mannini, M. Fraccaro, M. Gerli, L. Tiepolo, C. Zara). *Arch. Ost. e Gin. Suppl.* vol. 71: 1-15, 1966.
- 35 L'effetto del trattamento con ciclofosfamide sulla dinamica cromosomica di popolazioni di cellule tumorali in vivo. (C. Zara, M. Fraccaro, M. Gerli, A. Mannini, L. Tiepolo). *Arch. Ost. e Gin., Suppl.* vol. 71: 1-13, 1966.
- 36 Applicazione del metodo di Papanicolaou allo studio di popolazioni di cellule neoplastiche in vivo e in vitro. (M. Gerli, C. Zara, M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo). *Arch. Ost. e Gin. Suppl.* vol. 71: 1-8, 1966.
- 37 Incorporation of tritium-labelled actinomycin in a human cell line. (M. Fraccaro, L. Tiepolo, A. Albertini). *Exp. Cell Res.*, 43: 136- , 1966.
- 38 I cromosomi dell'uomo. Relazione al VI Congresso Internazionale di Patologia Clinica, Roma, 3-8 Ottobre 1966, pp. 359-360.

- 39 Possible localization of the genes for the Kidd blood group on an autosome involved in a reciprocal translocation. (Maj Hultén, J. Lindsten, L. Ming Pen-Ming, M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo, E.B. Robson, A. Heiken, K.-G. Tillinger). *Nature*, 211: 1067-1068, 1966.
- 40 Analysis of karyotype changes in ovarian malignancies. (M. Fraccaro, L. Tiepolo, M. Gerli, C. Zara). *Panminerva Medica*, 8: 1-19, 1966.
- 41 Analisi della variabilità cariotipica in un caso di neoplasia ovarica. (M. Fraccaro, M. Gerli, L. Tiepolo, C. Zara). *Minerva Ginecologica*, 18: 187, 1966.
- 42 The nature, origin and genetical implications of structural abnormalities of the sex chromosomes in man(summary). (M. Fraccaro, J. Lindsten). *Minerva Pediatrica*, 17: 584-585, 1965.
- 43 The XY bivalent in human male meiosis. (Maj Hultén, J. Lindsten, Pen-Ming L. Ming, M. Fraccaro). *Ann. hum. Genet.*, 30: 119-123, 1966.
- 44 Asincronia di replica e distribuzione dell'eterocromatina nei cromosomi di cellule somatiche di *Drosophila* coltivate in vitro. (C. Barigozzi, S. Dolfini, M. Fraccaro, G. Rezzonico Raimondi, L. Tiepolo). *Rendiconti Istituto Lombardo (B)* 100: 26-30, 1966.
- 45 Meiotic studies in autosomal structural abnormalities. (M. Fraccaro, Maj Hultén, J. Lindsten). Abstract of Contributed Papers - Third Int. Congr. of Hum. Genet. - Chicago, September 5-10, 1966, pp. 32-33.
- 46 Low dose continuous irradiation with tritiated water of mammalian cells in culture. (M. Fraccaro, A. Mannini, L. Tiepolo). Book of Abstract. Third Int. Congr. of Radiation Research - Cortina d'Ampezzo - June 26-July 2, 1966, pp. 87.

- 47 Su di un caso di sindrome di Turner con raro reperto cromosomico (mosaico parziale). (C. Zara, A. Mannini, U. Magrini). *Acta Geneticae Medicae et Gemellologiae*, 15: 371-385, 1966.
- 48 The thymus in the pituitary dwarf mouse. (C. Baroni, L. Tiepolo). *The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis*, Bristol, April 1966, pp. 56-61.
- 49 Su di un caso di sindrome di Turner con raro reperto cromosomico. (C. Zara, A. Mannini, U. Magrini). *Minerva Ginecologica*, 15: 489, 490, 1966.
- 50 A clinical and cytogenetical study of three patients with male phenotype and apparent XX sex chromosome constitution. (J. Lindsten, C.G. Bergstrand, K.-G. Tillinger, H.-G. Schwarzacher, L. Tiepolo, S. Muldal, B. Hökfelt). *Acta Endocrinolog.*, 52: 91-112, 1966.
- 51 Chronology of DNA replication of the sex chromosomes in somatic and germ-line of three rodents. (M. Fraccaro, I. Gustavsson, Maj Hultén, J. Lindsten, L. Tiepolo). "Effect of Radiation on meiotic system" pag. 81-87; Intern. Atomic Energy Agency, Vienna, 1968.
- 52 Timing of sex chromosome replication in somatic and germ-line cells of the mouse and the rat. (L. Tiepolo, M. Fraccaro, Maj Hultén, J. Lindsten, A. Mannini, Pen-Ming L. Ming). *Cytogenetics*, 6: 51-66, 1967.
- 53 DNA replication patterns of chromosomes numbers 21-22 in female mosaic mongols. (M. Fraccaro, L. Tiepolo, J. Lindsten, Maj Hultén, T. Linné, D. Andrews). in "Mongolism" Ciba Foundation Study Group N. 25, London, 1967, pp. 62-69.

- 54 Aspetti metodologici della citogenetica dei tumori (M. Fraccaro). Arch. Ost. e Gin. 71: 84-130, 1966.
- 55 Modalità di replicazione del DNA cromosomico in cellule tumorali. (L. Tiepolo, M. Fraccaro, A. Mannini, C. Zara). Arch. Ost. e Gin. Suppl. vol. 71: 116-130, 1966.
- 56 Morquio's disease: metachromatic granules in cultured fibroblasts (M. Fraccaro, A. Mannini, L. Lenzi, U. Magrini, P. Perona, E. Sartori). Lancet, i: 508, 509, 1967.
- 57 Chicago Conference: Standardization in Human Cytogenetics. (M. Fraccaro e al tri). Birth Defects, N. 2, vol. II, 1966.
- 58 A first approach to the somatic cell genetics of *Drosophila melanogaster*: studies of DNA replication. (C. Barigozzi, S. Dolfini, M. Fraccaro, C. Halfer, G. Rezzonico Raimondi, L. Tiepolo). Atti Ass. Genet. It. XII: 291-300, 1967.
- 59 Trisomy 21 or 22 in Down's syndrome? (M. Fraccaro, J. Lindsten, L. Tiepolo). Lancet, i: 1389, 1967.
- 60 X-linked cataract (M. Fraccaro, G. Morone, U. Manfredini, Ruth Sanger). Ann. hum. Genet., 31: 45-50, 1967.
- 61 Double aneuploidy (46, XXY, D-, D-, t(DqDq)+ (L. Tiepolo, M. Fraccaro, Maj Hultén, J. Lindsten). Annales de Génétique, 10: 114-117, 1967.
- 62 Chromosome DNA replication in human tumour cells labelled in vivo and in vitro (L. Tiepolo, M. Fraccaro, C. Zara). Europ. J. Cancer, 3: 355-360, 1967.

- 63 Aspetti metodologici dell'analisi delle modalità di replicazione del DNA cromosomico mediante autoradiografia. (L. Tiepolo). *Aggiornamenti di Radiobiologia*, 1: 194-201, 1966.
- 64 Autoradiografiska undersökningar av humana kromosomer (M. Fraccaro). *Läkartidningen*, 65: 223-267, 1968.
- 65 Mucopolysaccharidoses: autoradiographic study of sulphate <sup>35</sup>S uptake by cultured fibroblasts (U. Magrini, M. Fraccaro, L. Tiepolo, S. Scappaticci, L. Lenzi, G.P. Perona). *Ann. hum. Genet.*, 31: 231-236, 1967.
- 66 Unusual chromosomal mosaic (46, XX/46, XX, Xq+) in a girl with multiple malformations (B. Eriksson, M. Fraccaro, Maj Hultén, J. Lindsten, L. Tiepolo). *Annales de Génétique*, 11: 6-10, 1968.
- 67 Karyotypic clonal evolution in a cystic adenoma of the ovary (M. Fraccaro, Anna Mannini, L. Tiepolo, M. Gerli, C. Zara). *Lancet*, i: 613-614, 1968.
- 68 Presumptive X-autosome translocation in a cow: preferential inactivation of the normal X chromosome. (I. Gustavsson, M. Fraccaro, L. Tiepolo, J. Lindsten). *Nature*, 218: 183-184, 1968.
- 69 Chronology of DNA replication in the sex chromosomes of the reindeer (*Rangifer tarandus* L.). (M. Fraccaro, I. Gustavsson, Maj Hultén, J. Lindsten, L. Tiepolo). *Cytogenetics*, 7: 196-211; 1968.
- 70 Contributo all'analisi biometrica del cariotipo umano mediante elaboratore elettronico. (G. Gallus, N. Montanaro, G.A. Maccacaro, M. Fraccaro, L. Tiepolo). *Atti Ass. Genet. It.* XIII: 72-73, 1968. (riassunto).

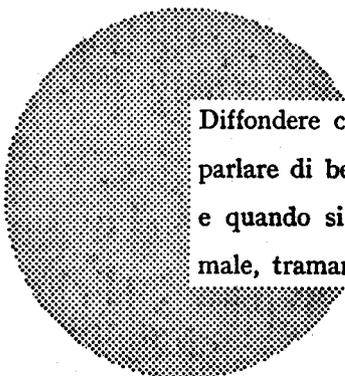
## AVVISO AI LETTORI

Tutte le relazioni Euratom sono segnalate, a mano a mano che vengono pubblicate, nel periodico mensile « euro abstracts », edito dal Centro di Informazione e Documentazione (CID). Per abbonamenti (1 anno : Lit. 10.250, FB 820) e richieste di numeri di saggio, rivolgersi a :

**Handelsblatt GmbH**  
**« euro abstracts »**  
**Postfach 1102**  
**D 4 Düsseldorf 1 (Germania)**

oppure a

**Office de vente des publications officielles  
des Communautés européennes**  
**37, rue Glesener**  
**Luxembourg**



Diffondere cognizioni equivale a diffondere benessere — intendo parlare di benessere generale e non già di ricchezza individuale — e quando si instaura il benessere va sempre più scomparendo il male, tramandatoci da un oscuro passato.

**Alfred Nobel**

## UFFICI DI VENDITA

Tutte le relazioni pubblicate dalla Commissione delle Comunità Europee si vendono nei seguenti uffici ai prezzi indicati a tergo della prima pagina della copertina. All'atto dell'ordinazione, indicare chiaramente il riferimento EUR e il titolo della relazione che figurano sulla prima pagina della copertina.

### UFFICIO VENDITA DELLE PUBBLICAZIONI

#### UFFICIALI DELLE COMUNITÀ EUROPEE

37, rue Glesener, Luxembourg (Compte chèque postal N° 191-90)

#### BELGIQUE - BELGIË

MONITEUR BELGE  
Rue de Louvain 40-42 - 1000 Bruxelles  
BELGISCH STAATSBAD  
Leuvenseweg 40-42 - 1000 Brussel

#### DEUTSCHLAND

BUNDESANZEIGER  
Postfach - 5000 Köln 1

#### FRANCE

SERVICE DE VENTE EN FRANCE  
DES PUBLICATIONS DES  
COMMUNAUTES EUROPEENNES  
26, rue Desaix - 75 Paris 15°

#### ITALIA

LIBRERIA DELLO STATO  
Piazza G. Verdi, 10 - 00198 Roma

#### LUXEMBOURG

OFFICE DE VENTE  
DES PUBLICATIONS OFFICIELLES  
DES COMMUNAUTES EUROPEENNES  
37, rue Glesener - Luxembourg

#### NEDERLAND

STAATSDRUKKERIJ  
Christoffel Plantijnstraat - Den Haag

#### UNITED KINGDOM

H. M. STATIONERY OFFICE  
P.O. Box 369 - London S.E.1

Commissione delle  
Comunità Europee  
D.G. XIII - C.I.D.  
29, rue Aldringer  
Luxembourg