

## 牛 赤血球膜 蛋白의 電氣泳動法에 의한 分析

— 낮은 赤血球 沈降速度와의 關係 —

朴 榮 宇 · 李 芳 煥\*

光州保健專門大學 臨床病理科

全南大學校 獸醫科大學\*

(1988.9.5 접수)

### **Electrophoretic analysis of the major proteins of bovine erythrocyte membrane: Their relation to slow erythrocyte sedimentation rate**

Young-woo Bahk, Bang-whan Lee\*

*Department of Clinical Pathology, Kwangju Health Junior College*

*College of Veterinary Medicine, Chonnam National University\**

(Received Sept 5, 1988)

**Abstract:** The proteins of the bovine erythrocyte membrane were analyzed by polyacrylamide gel electrophoresis in sodium dodecyl sulfate, and their relations to the slow sedimentation rate of bovine erythrocytes were investigated by treating the erythrocytes with trypsin. The erythrocyte sedimentation rates of bovine erythrocytes from Holstein and Korean native cattle were very slow compared with the human one (1/7 as slow as the human one) as reported previously. However, when human and Holstein erythrocytes were treated with trypsin (0.2 and 0.5 mg/ml) for 1 hour at 37°C, their sedimentation rates were markedly accelerated while the sedimentation rate of Korean native cattle's erythrocytes were not affected.

Although the general protein profiles of the bovine erythrocyte membranes were almost similar to that of human, bovine erythrocyte membranes showed one additional protein band, called band Q in this study, which migrated electrophoretically to the mid-position between band 2 and band 3 in human erythrocyte membranes. Treatment of Holstein and human erythrocytes with trypsin caused a decrease or disappearance of the band Q from the erythrocyte membrane. Although the band Q in Korean native cattle's erythrocyte membrane was decreased by trypsin treatment of the erythrocytes, the magnitude of the decrement was not so pronounced as in the case of human and Holstein erythrocytes.

The glycoprotein profiles of the bovine erythrocyte membranes revealed by periodic acid-Schiff stain showed a marked difference from that of human. The PAS-1 (glycophorin) and PAS-2 (sialoglycoprotein) present in human erythrocyte membrane were almost absent from the bovine erythrocyte membranes. Instead, the bovine erythrocyte membranes showed a strong PAS-positive band near the origin of the electrophorograms, which is named as PAS-B in this study. The PAS-B band was disappeared completely by the trypsin treatment of Holstein erythrocytes whereas the PAS-B band in Korean native cattle's erythrocyte membrane still remained after the trypsin treatment. The trypsin treatment of Korean native cattle's erythrocytes, however, led to the appearance of small molecular weight peptides, indicating that the high molecular

weight glycoproteins were degraded by trypsin as in human and Holstein ones.

These results suggest that the slow sedimentation rate of bovine erythrocytes is due in part to the presence of band Q protein fraction and PAS-B glycoprotein in the bovine erythrocytes.

**Key words:** proteins of bovine erythrocyte membrane, electrophoretic analysis, trypsin treatment of erythrocytes, erythrocyte sedimentation rate (ESR)

## 緒 論

Fahraeus<sup>1</sup>가 사람의 妊娠期間 중에 赤血球 沈降速度 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)가 促進된다는 사실을 처음으로 報告한 것이 계기가 되고, 그 후 많은 학자들에 의해서 ESR이 각종 疾病의 非特異的 臨床診斷法으로서 폭 넓게 적용될 수 있게 됨에 따라 그 測定 方法도 다양하게 開發, 改善되어 왔다.<sup>2,3,4</sup>

赤血球 沈降을 일으키는 가장 중요한 要因은 赤血球의 連鎖形成(rouleaux formation, RF)으로 알려져 있으며<sup>5-8</sup>, 사람과 다른 동물에서는 RF가 잘 일어나지만, 유독 反芻動物은 buffalo를 제외한 모든 動物에서 RF가 잘 일어나지 않아 ESR이 극히 저조함으로써 그 임상적 활용에 어려움이 뒤 따랐다.<sup>5,6</sup>

사람의 ESR 측정시에 측정관이 수직에서 약간만 기울어져도 ESR이 빨라진다는 것은 널리 알려진 사실이다. 최근 反芻動物에 이 原理를 기초로 한 傾斜 ESR 測定法을 開發함으로써 이의 임상적 응용의 可能性이 시사되고 있지만<sup>9,10</sup>, 정작 중요한 요인인 RF에 根本적으로 영향을 미치는 反芻動物 赤血球膜의 構造와 蛋白質에 관해서는 아직까지 알려져 있지 않다.

赤血球膜은 다른 形質膜에 비하여 그 分離와 精製가 용이하기 때문에, 일찍이 生體膜의 構造와 機能의 연구에 가장 많이 이용되어 왔으며, 또한 그 膜蛋白質이나<sup>11-16</sup> 脂質<sup>17</sup>에 관해서도 다른 生體膜보다 많이 알려져 있다. 사람이나 소의 赤血球膜을 대상으로 한 연구에 의하면, 赤血球膜 蛋白質은 그 種類가 적어도 8~16種이나 된다고 한다.<sup>13,18</sup>

本 研究에서는, 소에서 ESR이 낮은 이유를 밝혀보려고 韓牛와 젖소의 赤血球膜 蛋白質을 trypsin으로 부분 分解시킨 다음 ESR의 促進 여부를 검색하고, 동시에 赤血球膜 蛋白質을 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 分析하여<sup>19-21</sup> 사람의 것과 비교한 결과 有意한 結果를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## 材料 및 方法

**實驗動物:** 광주시에 소재하고 있는 三湖畜產(株)에

서 의관상 뚜렷한 臨床症狀이 없는 1세 이상의 韓牛와 Holstein種 젖소를 무작위로 선정하여 그 血液을 사용하였고, 사람의 경우에는 건강한 成人의 血液을 사용하였다.

**試藥:** polyacrylamide gel 電氣泳動試藥으로서 acrylamide, N, N'-methylene bisacrylamide (BIS), N, N', N', N'-tetramethylethylene diamine (TEMED), ammonium persulfate 등은 모두 BIO-RAD社 製品을 사용하였고, bovine serum albumin (BSA)과 tris-hydroxymethyl aminomethane (Tris), trypsin (type III), basic fuchsin 등은 Sigma Chemical社의 것을, sodium dodecyl sulfate (SDS), Coomassie brilliant blue R, acetic acid는 일본의 和光藥品社製를, 그리고 heparin sodium (25,000 IU/5ml)은 中外製藥社製를 사용하였다. 증류수는 금속 이온을 제거하기 위하여 Barnstead社의 NANOpure cartridge system에 통과시켜서 전기 저항이 18 megaohm-cm가 되는 것을 사용하였다.

**採血:** 사람에서는 肘正中皮靜脈(median cubital vein)에서, 소에서는 頸靜脈에서 1회용 주사기로 무균적으로 약 30 ml의 血液을 채혈하여 heparin (100IU/ml)으로 抗凝固 처리하고, 주사기에 든 그대로 운반하여 1시간 이내에 實驗에 사용하였다.

**赤血球의 分離:** heparin 처리 혈액을 4°C에서 1,000×g로 5分間 원심하여 血漿과 軟層(buffy coat)을 제거하였다.

침전된 赤血球를 4°C pH 8.0의 0.15M NaCl-5mM sodium phosphate buffer (PBS) 용액에 부유시켜 가볍게 교반, 세척하고 위와 같이 원심하여 상층액을 버렸다. 이와 같은 조작을 上層液이 맑아질 때까지 3회 이상 반복하고, 매 遠心時마다 上層液과 軟層을 제거하여 白血球의 混入을 방지하였다.

**赤血球膜의 分離:** 赤血球膜은 Fairbanks 등<sup>22</sup> 및 Schrier<sup>23</sup>가 기술한 방법으로 분리하였다. 즉, 세척된 적혈구에 20배 용량의 5mM sodium phosphate buffer (pH 8.0)를 가하여 용혈시키면서 가볍게 교반한 다음 용혈액을 4°C에서 20,000×g로 10分間 원심하여 赤血球膜을 침전 분리시켰다. 上層液을 제거하여 얻은 赤

血球膜이 회백색을 띠 때까지 적어도 4회 이상 시행하였으며, 매 시행시 마다 하층에 있는 흰 gelatin性 침전물도 제거하였다.

**赤血球膜 蛋白含量 測定:** 赤血球膜의 蛋白含量은 Lowry 등<sup>24</sup>의 Folin phenol 方法으로 測定하였으며, BSA를 표준단백으로 삼았다.

**赤血球의 trypsin 處理:** 赤血球의 trypsin 處理는 Carraway<sup>25</sup>가 기술한 바에 따랐다. 즉, 잘 세척된 赤血球 1 ml를 3 ml의 PBS (pH 8.0)액에 부유시키고, 여기에 trypsin (0.2~0.5 mg/ml)을 가하여 37°C에 1 시간 부치하였다. Trypsin 처리후, 0.05 mg/ml의 phenylmethanesulfonyl fluoride을 가하여 trypsin 작용을 정지시켰다. 그후, 즉시 trypsin 처리 적혈구를 PBS 액으로 세척한 다음, 이로 부터 赤血球膜(ghost)을 분리하였다.

**ESR의 測定:** 全血의 ESR은 heparinized whole blood를 plastic ESR 측정관(길이 20 cm, 내경 2 mm)에 充塡하여 실온에서 1시간 마다 측정하였다<sup>4</sup>. 세척된 적혈구나, 이를 미리 trypsin 처리한 것의 ESR은 세척된 赤血球, 또는 trypsin 처리한 赤血球 3容량에 自家血漿 7容량을 가하여 30% hematocrit치가 되도록 한 것을 ESR관에 충전하여 측정하였다.

**SDS-PAGE:** 赤血球膜 蛋白의 電氣泳動은 Laemmli 方法<sup>21</sup>으로 시행하였다. acrylamide 농도는 8%로, acrylamide와 BIS와의 濃度比는 37.5:1로 하였다. 赤血球膜을 10% SDS 함유-시료혼합액에 녹인 다음 gel tube(내경 5 mm, 길이 11 cm) 當 100 μg 蛋白量을 負荷하여 전기 영동하였으며, 영동조의 온도는 冷却水를 순환시켜 15°C로 조절하였다. 泳動後 gel上에서 分離된 蛋白分劃은 Coomassie blue로, 糖蛋白 分劃은 periodic acid-Schiff 시약(PAS)으로 각각 染色하고, 이들 分劃의 吸光度를 0.05 mm slit를 통해 각각 550 nm와 560 nm에서 Gilford gel scanner로 測定, 自動 記錄하였다.

### 實驗成績

**적혈구의 trypsin 처리에 의한 ESR의 변동:** 사람과 젓소 및 한우의 ESR을 각각 全血과 이로부터 분리한 적혈구의 trypsin 처리군으로 나누어서 측정한 것을 Table 1에 표시하였다.

사람의 ESR이 全血에서  $6.8 \pm 3.3$  mm/hr로 소의 것(젓소:  $1.0 \pm 1.1$  mm/hr, 한우:  $0.8 \pm 1.0$  mm/hr)보다 훨씬 빨랐다. 적혈구를 분리, 세척한 후 측정한 ESR은 사람의 것이  $51.3 \pm 45.0$  mm/hr로 全血 보다 더욱 빨라졌지만, 소에서는 젓소에서  $0.6 \pm 0.3$  mm/hr, 한

우에서  $0.5 \pm 0.5$  mm/hr로 全血과 별 차이가 없었다. 이것은 시간이 더욱 경과해도 같은 결과로 나타났다.

그런데, 적혈구를 trypsin 처리하면 사람에선 ESR이 다소 促進되는 경향을 보였으나 有意性은 없었으며 젓소에서는 현저히 促進되었다. 그러나, 한우 적혈구에서는 trypsin처리에도 불구하고, 그 ESR이 促進되지 않았다.

**사람과 소 赤血球膜 蛋白의 電氣泳動像:** Fig 1에 表示한 바와 같이, 사람과 소 赤血球膜 단백질의 SDS-polyacrylamide 전기영동상은 대체로 비슷하였으나, 소 적혈구에서는 사람 것의 band 2와 3 사이에 해당하는 위치에서 또 하나의 새로운 蛋白 分劃이 나타나, 本 研究에서는 이를 band Q라 命名하였다.

赤血球를 trypsin (0.2 mg/ml와 0.5 mg/ml)으로 37°C에서 1시간 처리하면 band Q가 韓牛의 것에 비하여 젓소의 것에서 크게 減少하여 거의 消失되었으며, 나머지 蛋白分劃도 韓牛에서 보다 사람이나 젓소에서 더욱 많은 減少 경향을 보였다.

赤血球膜의 糖蛋白質을 PAS 염색으로 비교해 보면 Fig 2에 表示한 바와 같이 젓소와 한우의 것에서는 다 같이 사람의 PAS-1에 해당되는 分劃이 없는 대신 電氣泳動像의 原點 部位에 강한 PAS 陽性 分劃이 새로이 나타나, 本 研究에서는 이를 PAS-B라 命名하였다.

赤血球를 trypsin으로 처리하면 사람의 것에서 PAS-1과 Holstein의 것에서 PAS-B가 모두 소실되었으나, 韓牛의 것에서는 PAS-B가 trypsin 농도에 대체로 비례하여 減少하였을 뿐, 完全히 消失되지는 아니하였다

### 考 察

사람 赤血球를 대상으로 한 여러 研究<sup>11,26,27</sup>에 의하면 사람 赤血球膜 蛋白의 2/3를 접하는 polypeptide는 전기영동법으로 약 15種 정도가 검출되며, 이 중 細胞膜의 전체층을 세포막 外面으로 부터 內面까지 貫通하고 있는 蛋白은 2 종류가 있다고 한다.<sup>11,12,28</sup> 그 중, glycophorin (PAS-1 蛋白이라고 함)은 trypsin, papain 및 bromelain과 같은 蛋白分解酵素로 分解될 수 있으나, polypeptide 3 (band 3이라고도 함)은 trypsin에 의해서는 分解되지 않는 대신 chymotrypsin, pronase 및 subtilisin과 같은 蛋白分解酵素에 의하여서는 分子量이 작은 단편으로 分解된다고 한다.<sup>11,12,26</sup>

赤血球膜을 構成하고 있는 여러 polypeptide 중 band 3과 같은 단백질은 사람 이외의 여러 포유류에서도 사람 赤血球와 비슷한 分布 및 膜結合 樣相을 보이지만 glycophorin과 sialoglycoprotein과 같은 糖蛋白質은 動

**Table 1.** Effect of trypsin treatment of erythrocyte on erythrocyte sedimentation rate (ESR)

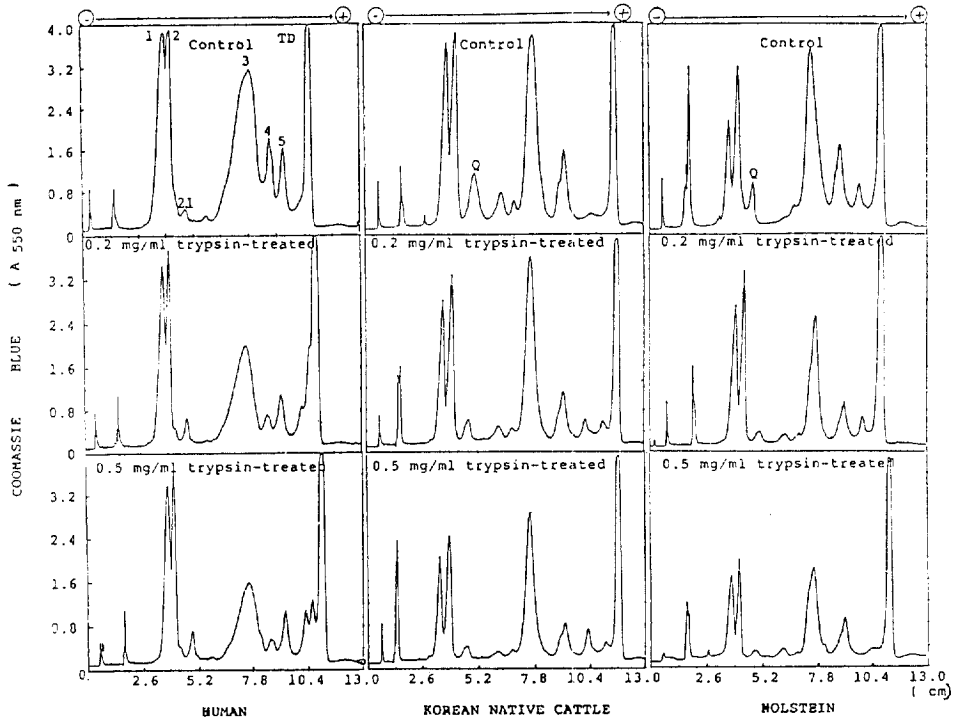
Species	Samples	ESR (mm)		
		1 hr Mean±S.D.	2 hr Mean±S.D.	3 hr Mean±S.D.
Human (n=6)	Whole blood	6.8± 3.3	19.4±11.4	34.6±20.6
	Washed RBC <sup>a</sup>	51.3±45.0*	71.3±45.4*	110.4±17.2*
	RBC treated with 0.2mg/ml trypsin <sup>b</sup>	72.5±45.2	94.5±29.8	109.7±17.4
	RBC treated with 0.5mg/ml trypsin	70.1±44.5	93.3±35.3	108.8±31.3
Holstein (n=6)	Whole blood	1.0± 1.1	1.5± 1.3	2.7± 1.4
	Washed RBC	0.6± 0.3	0.8± 0.7	1.5± 0.9
	RBC treated with 0.2 mg/ml trypsin	90.8±62.3**	83.4±66.5**	73.0±64.7**
	RBC treated with 0.5 mg/ml trypsin	120.8±44.8**	133.3± 5.2**	137.8± 7.7**
Korean native cattle (n=6)	Whole blood	0.8± 1.0	1.8± 1.7	1.6± 2.0
	Washed RBC	0.5± 0.5	2.0± 1.4	2.2± 0.6
	RBC treated with 0.2 mg/ml trypsin	0.4± 0.5	1.6± 0.5	1.6± 0.4
	RBC treated with 0.5 mg/ml trypsin	0.8± 0.4	1.5± 0.5	2.0± 0.6

<sup>a</sup>The ESR of washed RBC was measured after washed RBC was suspended in 2.3 volumes of autologous plasma.

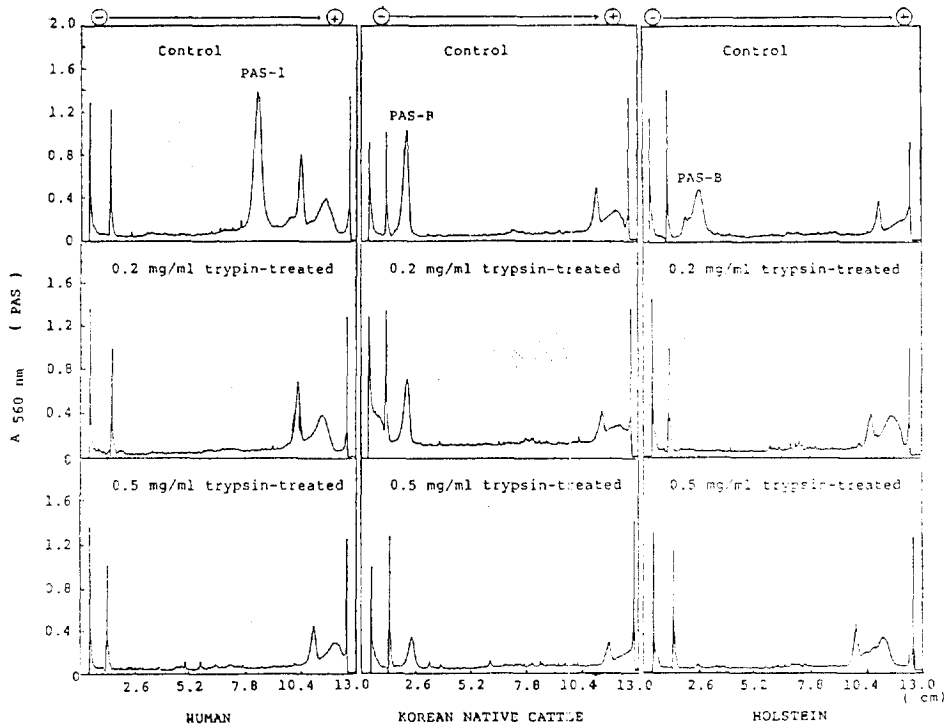
<sup>b</sup>Trypsin treatment of RBC was carried out by incubating 25% washed RBC suspension in PBS, pH 8.0, with trypsin for 1 hr at 37°C. The trypsinized RBC was suspended in autologous plasma, and its ESR was measured as described for washed RBC.

\* Significant difference (p<0.01) between whole blood and washed RBC.

\*\*Significant difference (p<0.01) between washed RBC and trypsin-treated RBC.



**Fig. 1.** Densitometric scans of Coomassie blue-stained polypeptides of human and bovine erythrocyte membranes, as affected by trypsin treatment of the erythrocytes.



**Fig 2.** Densitometric scans of PAS-stained glycoproteins of human and bovine erythrocyte membranes, as affected by trypsin treatment of the erythrocytes.

物에 따라서 다른 分布 및 막결합 양상을 보이고<sup>29</sup>, 이들 중 어떤 것은 赤血球의 成熟과 더불어 消失되어 간다는 사실이 家畜에서 보고되고 있다.<sup>30,31</sup>

Fig 1에 표시한 바와 같이, 사람과 젖소 및 韓牛의 赤血球膜 蛋白像은 一見해서 대체로 비슷하였지만, 젖소와 한우에서는 사람에서의 band 2와 band 3 사이에 해당하는 위치에 사람의 것에서는 없는 새로운 蛋白分劃(本 研究에서는 이를 band Q로 命名함)이 나타났었다. 그리고, 사람의 것에는 band 4 (actin cytoskeleton, acetylcholinesterase)와 band 5 (actin-like polypeptide)의 양이 한우와 Holstein의 것보다 증가되어 있음이 注目되었다.

이들 膜蛋白 分劃中, band 1과 2 및 band 3 分劃이 主要 蛋白으로서, 이 中 band 1은 膜骨格 蛋白의 主要 成分인 spectrin의  $\alpha$ -subunit(分子量 240,000)이고, band 2는 spectrin의  $\beta$ -subunit(分子量 215,000)로 알려져 있다.<sup>11,28,32</sup> Band 3은 赤血球膜을 内外로 貫通하고 있는 主要 integral protein으로서 anion channel 구실을 하는 蛋白質로 알려져 있다.<sup>11,33</sup>

牛 赤血球膜 蛋白의 電氣泳動像에서 이들 主要 蛋白 分劃의 泳動距離(移動度)가 사람의 것과 거의 一致한

것을 보면, 소나 사람에게 있어 이들 蛋白의 分子量도 同一함을 알 수 있다. 따라서, 소에서의 band Q는 분자량이 215,000 (band 2)과 88,000 (band 3)의 중간치인 140,000~160,000이 될 것이라 추측되었다.

일반적으로, 赤血球膜의 機能과 膜蛋白 分劃과의 關係라든가, 赤血球膜에 있어서 膜蛋白의 位置 등을 알고자 할 때는 赤血球나, 또는 이로부터 分離한 膜分劃에 trypsin과 같은 蛋白分解酵素를 作用시켜 赤血球膜의 外部나, 또는 内部에 露出되어 있는 蛋白分劃을 分解시켜 膜機能의 變化나, 電氣泳動像의 變化를 보는 것이 常例로 되어 있다.

일찌기, Winzler<sup>34</sup>는 사람 赤血球를 trypsin으로 처리하면 赤血球膜의 糖蛋白質인 sialoglycoprotein으로부터 sialoglycopeptide가 유리됨을 관찰하였으며, 또 그 후 Carraway<sup>25</sup>도 赤血球의 trypsin 처리로 赤血球膜에서 sial酸이 유리됨을 보고, 赤血球膜 糖蛋白質의 sial酸은 赤血球膜의 外面에 露出되어 位置하고 있다고 하였다. 赤血球의 trypsin 처리는 이 밖에도 膜貫通 蛋白인 band 3의 膜外部 露出部位를 分解시킴도 알려져 있다.<sup>35</sup>

이와 같은 事實은, 本 研究에서 사람과 Holstein 젖

소의赤血球에서도 確認되었다. 즉, 적혈구의 trypsin 처리에 의하여 사람의 것에서는, 주로 band 3, 4, 5가 약간씩 分解되었고 PAS-1 分劃은 完全분해되었으며, 특히 Holstein 젖소의 것에서 band Q는 현저히, PAS-B는 完全 分解 消失되었다. 그러나, 韓牛의 것에서는 band Q 뿐만 아니라 PAS-B 분획도 적혈구의 trypsin 처리로 減少되었지만, 사람이나 Holstein 것에 있어서처럼 完全 消失되지는 아니 하였다.

한편, 赤血球의 沈降速度는 사람의 것에서 赤血球의 trypsin 처리군이 비처리 적혈구군 보다 약 20 mm 내외의 증가 경향을 보였고, 또한 Holstein 젖소의 ESR은 trypsin 처리군에서 더욱 促進되었는데 반하여, 韓牛의 것에서는 거의 促進되지 아니하였다(Table 1). 따라서, 赤血球의 trypsin 처리에 의한 ESR의 變化和 膜蛋白分劃의 變動을 相關시켜 보면, 소 赤血球의 느린 沈降速度는 그 原因의 一部分이 소의 赤血球에만 存在하는 band Q와 PAS-B에 있음을 시사하는 것으로 사료된다.

사람의 PAS-1은 반 이상(57%)이 sial 酸으로 구성 되어 있으며<sup>22</sup>, 또 사람 赤血球를 trypsin으로 처리하면 赤血球膜의 sial酸이 유리된다는 보고<sup>25</sup>가 있음에 비추어 Holstein 젖소의 赤血球膜 sial酸 含量도 trypsin 처리로 減少되었을 것이라 생각된다.

赤血球膜의 外面에 露出되어 있는 糖蛋白質의 sial 酸 含量이 trypsin 처리로 減少하면, 赤血球膜의 陰이온 電荷도 減少될 것이므로 赤血球끼리의 連鎖形成이 促進되어, 그 結果 赤血球 沈降速度도 促進될 것이라 생각된다.

## 結 論

소 赤血球의 沈降速度(ESR)가 낮은 원인을 밝혀보려고, 사람과 소의 赤血球 膜蛋白을 trypsin으로 부분 分解시킨 다음 ESR의 促進 여부를 검색하고, 동시에 赤血球膜 蛋白像의 變化를 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel 電氣泳動法으로 分析하였다.

소(Holstein 젖소 및 韓牛)의 ESR은 사람 것에 비하여 1/7 정도 매우 낮았다. 그러나, 赤血球 부유액에 trypsin (0.2 mg/ml 및 0.5 mg/ml)을 가하여 37°C에서 1시간 부치면 사람과 Holstein 젖소의 ESR은 현저히 促進되었으나, 韓牛 것은 거의 促進되지 아니하였다.

소 赤血球膜 蛋白의 전기영동상은 대체로 사람의 것과 비슷하였으나, 사람의 것에서는 存在치 않은 또 하나의 蛋白分劃이 사람의 band 2와 3 사이에 해당하는 위치에 나타나서, 이 分劃을 band Q라命名하였다. 이

band Q는 赤血球를 trypsin으로 처리하면 Holstein 젖소의 것에서는 많이 消失되었으나, 韓牛의 것에서는 약간 減少되었다.

Periodic acid-Schiff (PAS) 염색으로 검색한 赤血球膜의 糖蛋白 分劃像은 사람과 소 間에 큰 差가 認定되었다. 즉, 사람 것의 PAS-1 (glycophorin)의 糖蛋白은 젖소와 韓牛에서는 거의 나타나지 않고, 그 대신 電氣泳動像의 原點에 가까운 部位에 강한 PAS-陽性 分劃이 나타나서 이를 PAS-B라命名하였다.

赤血球를 trypsin으로 처리하면 사람의 것에서는 PAS-1, Holstein의 것에서는 PAS-B 糖蛋白 分劃이 完全 消失되었으나, 韓牛의 것은 trypsin 量에 비례하여 減少할 뿐 完全히 消失되지는 않았다. 그러나, 韓牛의 것에서도 사람과 Holstein 것에 처럼 trypsin 처리로 低分子 糖蛋白 分劃이 出現하여, 高分子 糖蛋白이 trypsin에 의하여 部分 分解되었음을 시사하였다.

이상의 實驗 結果로 미루어 보아, 소 赤血球의 낮은 沈降速度는 소 赤血球膜의 band Q 蛋白 分劃과 PAS-B 糖蛋白 分劃의 存在에 一部 起因된 것으로 示唆되었다.

謝辭: 본 연구를 수행하는 데 있어서, 자상하신 지도와 아낌없이 모든 實驗施設을 제공하여 주신 全南醫大 生化學教室의 李民化 教授님의 恩惠에 感銘하오며, 아울러 實驗을 도와주신 여러 교실원, 그리고 sample 채취를 도와 주신 광주시청의 오대영, 김재익 수의사님께 深甚한 辭意를 포함합니다.

## 참 고 문 헌

1. Fahraeus R. The suspension stability of the blood. *Acta Med Scand* 1921; *W*:1~6.
2. Wintrobe MM. Erythrocyte sedimentation rate. In: Wintrobe MM, ed. *Clinical hematology*. 8th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981; 27~32.
3. Gambino SR, Dire JJ, Monteleone M, et al. The Westergren sedimentation rate, using K<sub>3</sub>-EDTA. *Am J. Clin Pathol* 1965; 45:173~180.
4. Westergren A. The technique of the red cell sedimentation reaction. *Am Rev Tuberc* 1926; 14:94~101.
5. Vacca C, Montemagno G, Persechino A, et al. Erythrocyte sedimentation in cattle and buffaloes: a general hypothesis. *Folia Veterinaria Latina* 1974; 4:24~39.
6. Vacca C, Motemagno G, Persechino A, et al. Research on the erythrocyte sedimentation rate

- buffaloes and cattle. *Atte della soeieta Italiana delle Scienze Veterinarie* 1972; 26:219~222.
7. Fahraeus R. The influence of the rouleau formation of the erythrocytes on the rheology of the blood. *Acta Med Scand* 1958; 161:151~165.
  8. Gilligan DR, Ernstene AC. The relationship between the erythrocyte sedimentation rate and the fibrinogen content of plasma *Am J Med Sci* 1934; 187:552~556.
  9. Shin SS, Lee BW, Shin JU. Angled capillary method for determining erythrocyte sedimentation rate of goat. *Korean J Vet Res* 1986; 26: 187~194.
  10. Lee BW, Shin JU. Angled tube method for determining erythrocyte sedimentation rate of cattle. *Korean J Vet Res* 1986; 26:175~186.
  11. Steck TL. The organization of proteins in the human red blood cell membrane. *Rev J Cell Biol* 1974; 62:1~19.
  12. Marchesi SL, Steers E, Marchesi VT, et al. Physical and chemical properties of a protein isolated from red cell membranes. *Biochem* 1970; 9:50~57.
  13. Rosenberg SA, Guidotti G. The proteins of erythrocyte membrane: structure and arrangement in the membrane. In: Jamieson GA, Greenwalt TJ, ed. *Red cell membrane: structure and function*. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1969; 93.
  14. Zwaal RFA, Van Deenen LLM. Protein patterns of red cell membranes from different mammalian species. *Biochem Biophys Acta* 1968; 163:44~49.
  15. Rega AF, Weed RI, Reed CF, et al. Changes in the properties of human erythrocyte membrane protein after solubilization by butanol extraction. *Biochem Biophys Acta* 1967; 147:297~304.
  16. Maddy AH. The solubilization of the protein of the ox-erythrocyte ghost. *Biochem biophys Acta* 1964; 88:448~453.
  17. Sweeley CC. Lipids of the erythrocyte. In: Jamieson GA, Greenwalt TJ, ed. *Red cell membrane: structure & function*. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1969; 172~181.
  18. Dresdner GW, Hein S, Siefmund MI. Study of the bovine erythrocyte: enzymetic activites of the cell and its membrane. *Arch Biochem Biophys* 1974; 165:9~21.
  19. Names BD. An introduction to polyacrylamide gel electrophoresis. In: Hames BD, Rickweed D, ed. *Gel electrophorsis of proteins: a practical approach*. Oxford·Washington DC: IRL Press, 1981; 1~91.
  20. Chrambach A, Rodbard D. Polyacrylamide electrophoresis. *Sci* 1971; 172:440~451.
  21. Laemmli UK. Cleavage of structure protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)* 1970; 227:680~685.
  22. Fairbanks G, Steck TL, Wallach DFH. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochem* 1971; 10:2606~2616.
  23. Schrier SL. Human erythrocyte membrane enzyme: current status and clinical correlates. *Blood* 1977; 50:227~234.
  24. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr Al, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193:265~270.
  25. Carraway KL. Proteolytic enzyme treatment. In: Ellory JC, Young JD, ed. *Red cell membranes: a methodological approach*. New York: Acad Press, 1982; 239~250.
  26. Jenkins RE, Tanner MJA. The major human erythrocyte membrane protein: evidence for an S-shaped structure which traverses the membrane twice and contains a duplicated set of sites. *Biochem J* 1975; 147:393~402.
  27. Reichstein E, Blostein R. Arrangement of human erythrocyte membrane proteins. *J Biol Chem* 1975; 250:6256~6261.
  28. Gratzer WB. The red cell membrane and its cytoskeleton. *Biochem J* 1981; 198:1~8.
  29. Finean JB, Michell RH. Membrane proteins and glycoproteins. In: Finean JB, Michell RH, ed. *Membrane structure*. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biom Press, 1981; 10~18.
  30. Han YS. Inactivation by trypsin and solubilization by lipase of acid phosphatase in rabbit erythrocyte membranes. *Chonnam Med J* 1975; 12:671~674.
  31. Koch PA, Gardner FH, Carter JR. Red cell

- maturation: loss of a reticulocyte-specific membrane protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1973; 54:1296~1302.
32. Marchesi VT. The red cell membrane skeleton: recent progress. *Blood* 1983; 61:1~7.
33. Macara IG, Kuo S, Cantley LC. Evidence that inhibitors of anion exchange induce a transmembrane conformational change in band 3. *J Biol Chem* 1983; 258:1785~1792.
34. Winzler RJ. A glycoprotein in human erythrocyte membranes. In: Jamieson GA, Greenwalt TJ, ed. *Red cell membrane: structure and function*. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1969; 157~171.
35. Steck TL, Fairbanks G, Wallach DFH. Disposition of the major proteins in the isolated erythrocyte membrane: proteolytic dissection. *Biochem* 1971; 10:2617~2624.
-