

## 경주마 적혈구막 단백질의 전기영동법에 의한 분석 — 빠른 적혈구 침강 속도와의 관계 —

박 영 우 · 이 시 영\*  
광주보건전문대학 · 한국마사회\*  
(1991. 4. 12 접수)

### Electrophoretic analysis of the major proteins of race horse erythrocyte membrane: Their relation to fast erythrocyte sedimentation rate.

Yeong-woo Bahk, Si-yeong Lee\*

*Department of Clinical Pathology, Kwangju Health Junior College  
Equine Health Research, Korean Horse Affairs Association\**

(Received Apr 12, 1991)

**Abstract:** The proteins of the race horse erythrocyte membrane were analysed by polyacrylamide gel electrophoresis in sodium dodecyl sulfate(SDS-PAGE), and their relations to the fast erythrocyte sedimentation rate(ESR) of the race horse were investigated.

The erythrocyte sedimentation rate of race horse were very fast compared with the human one(33 times  $\langle 90^\circ$ -plastic-ESR/30m) and 25 times  $\langle 90^\circ$ -micro-ESR/30m) as fast as the human one) are reported previously.

Although the general protein profiles of the race horse erythrocyte membranes were almost similar to that of human, band 3 content was showing higher in race horse (34.7%) than in human (25.3%).

The glycoprotein profiles of the race horse erythrocyte membranes revealed by periodic acid Schiff's(PAS) 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 Holstein and race horse erythrocyte membranes, but PAS-2 was more in only race horse from that of human. Instead, the bovine erythrocyte membranes showed a strong PAS-B near the origin of the electrophorograms and the race horse erythrocyte membranes showed a strong PAS-negative band near the end of the electrophorograms, which is named as PAS-E in this study.

These results suggest that the fast sedimentation rate of race horse erythrocyte is due in part to the presence of more band 3 protein fraction and PAS-E glycoproteins in the race horse erythrocytes.

**Key words:** proteins of race horse erythrocyte membrane, electrophoretic analysis, erythrocyte sedimentation rate(ESR).

본 연구는 1990년도 문교부 학술연구 조성비의 지원에 의한 것임.

## 서 론

일반적으로 적혈구막(ghosts)은 다른 형질막에 비하여 그 분리와 정제가 용이하기 때문에 생체막의 구조와 기능의 연구에 가장 많이 이용되어 왔다. 특히, 사람의 적혈구막을 대상으로 하는 생화학적 연구는 1960년대 후반부터 시작되어 현재에 이르기까지 약 20년 동안에 많은 연구 업적을 거두게 되어 그 구조와 기능의 해명에 있어서 많은 발전을 보게 되었다.<sup>1-20</sup>

그럼에도 불구하고, 그 동안 가축의 적혈구막에 관한 연구는 거의 진행되지 않았으며 그 구조와 기능은 막연하게 사람의 그것에 준하여 추리적으로 설명되어 왔다.

그런데, 실제로는 가축의 적혈구막의 기능은 사람의 그것에 비하여 비슷한 점도 많지만 그 반면에 상의한 점도 많다.

그 실험을 든다면 buffalo를 제외한 소, 면양, 산양(염소)과 같은 반추동물에서는 적혈구의 연전상(rouleaux) 형성이 잘 이루어지지 않기 때문에 적혈구 침강속도가 매우 저조하여<sup>21-26</sup> ESR의 임상적 응용이 불가능하다던가, 적혈구의 취약성(fragility)이 사람에 비하여 취약하여 용혈이 잘 일어난다는 것 등을 들 수 있다.

실제로 저자들이 의해서 실시된 한우와 Holstein 젖소를 대상으로 한 것<sup>27</sup> 더 나아가 반추동물 전반에 걸쳐 한 것<sup>28</sup>의 적혈구막 단백질 전기영동법에 의한 분석의 결과에 따르면, 사람의 그것에서는 볼 수 없었던 새로운 단백질과 당단백 분획(저자들은 이들을 각각 band Q와 PAS-B로 명명하였음)을 관찰한 바 있으며, 또한 단백질효소와 당단백분해효소 처리에 의한 전기영동상에서도 차이가 있음을 관찰하였다.<sup>28</sup>

이것을 기초로 하여 사람과 동물 전반에 걸쳐 말의 ESR이 제일 빠른 이유를 밝혀보려고 경주마의 적혈구막 단백질의 분석과 아울러 사람과 소와의 ESR도 서로 비교 관찰하였다.

## 재료 및 방법

**실험동물** : Holstein 젖소는 서울시 근교 개인 목장에서, 경주마(Thoroughbred)는 한국마사회에서 외관상 뚜렷한 임상증상이 없는 3세 이상의 동물을 무작위로 선정하여 그 혈액을 사용하였고, 사람의 경우에는 현혈한 건강한 성인의 혈액을 사용하였다.

**시약** : Polyacrylamide gel 전기영동 시약으로서 acrylamide, N, N'-methylene-bis-acrylamide (BIS), N, N', N', N'-tetramethylethylene diamine(TEM-

ED), ammonium persulfate 등은 모두 Bio-Rad사 제품을, bovine serum albumin(BSA), tris(hydroxymethyl) aminomethane(Tris), heparin(grade II), basic fuchsin 등은 Sigma Chemical사의 것을, sodium dodecyl sulfate(SDS), Coomassie Brilliant blue R-250, acetic acid, sodium chloride는 일본의 화광약품제를 사용하였다.

증류수는 금속이온을 제거하기 위해 Barnstead사의 NANOpure cartridge system에 통과시켜 전기 저항이 18 megohm-cm가 되는 것을 사용하였다.

**채혈** : 사람에서는 주정중피정맥에서, 소와 말에서는 경정맥에서 1회용 주사기로 무균적으로 약 10ml의 혈액을 채혈하여 heparin(100IU/ml)으로 항 응혈 처리하고 주사기에든 그대로 운반하여 1시간 이내에 실험에 사용하였으며, 특히 경주마는 채혈 즉시 그 자리에서 실험을 진행하였다.

적혈구의 분리 : Heparin 처리 혈액을 Fairbanks 등<sup>6</sup> 기술한 방법으로 분리하였다. 즉, 4°C에서 1000xg로 5분간 원심하여 혈장과 연층을 제거하였다. 침전된 적혈구를 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 상층액이 맑아질 때까지 적어도 3회 이상 반복하고 매 원심시 마다 상층액과 연층을 제거하여 백혈구의 혼입을 방지하였다.

**적혈구막의 분리** : 적혈구막은 Fairbanks 등<sup>6</sup>, Schrier<sup>7</sup> 및 박과 이 등이<sup>27</sup> 기술한 방법으로 분리하였다. 즉, 세척된 적혈구에 20배 용량의 5mM sodium phosphate buffer(pH 8.0)를 가하여 용혈시키면서 가볍게 교반한 다음, 4°C 10,000xG로 10분간 원심하여 적혈구막을 침전 분리시켰다. 상층액을 제거하여 얻은 적혈구막이 회백색을 띠 때까지 적어도 4회 이상 시행하였으며, 매 시행시 마다 하층에 있는 흰 gclatin성 침전물도 제거하였다.

**적혈구막 단백질함량 측정** : 적혈구막의 단백질함량은 Bradford<sup>29,30</sup>의 bicinchoninic acid(BCA) 방법으로 측정하였으며, BSA를 표준단백으로 삼았다.

**ESR의 측정** : ESR측정 방법은 heparinized whole blood를 plastic ESR 측정관(길이 20cm, 내경 2mm)과 내경 1.1~1.2mm, 길이 7.5cm의 nonheparinized capillary hematocrit tube(W. Germany)를 동시에 사용하여 각 측정관을 수직으로 한 ESR(90°-plastic-ESR과 90°-micro-ESR)과 45° 경사로 한 ESR(45°-plastic-ESR과 45°-micro-ESR)로 구분하여 말에서는 10분마다 사람과 소에서는 30분마다 측정하였다.

**Table 1.** Comparison of the erythrocyte sedimentation rate among human, Holstein and race horse

Species	No. of blood Samples	Plastic-ESR(mm)				Micro-ESR(mm)			
		90° angle		45° angle		90° angle		45° angle	
		30min	60min	30min	60min	30min	60min	30min	60min
Human	5	0.9±0.7*	4.9±5.0*	31.2±5.1*	57.8±8.6*	0.1±0.04*	0.3±0.1*	1.5±0.2*	2.1±0.1*
Holstein	5	0±0	0±0	3.4±1.6	11±2.9	0±0	0.1±0	0.3±0.1	0.8±0.2
Race horse	5	29.8±32.5**	115.5±13.5**	83±19.3**		1.5±1.3**	2.9±0.3**	3.0±0.4**	

\* : Significant increase in human with the Holstein ( $p < 0.05$ ).

\*\* : Highly significant increase in race horse with the Holstein ( $p < 0.01$ ).

**SDS-PAGE:** 적혈구막 단백질의 전기영동은 Laemmli<sup>31</sup> 방법으로 시행하였다. acrylamide 농도는 10%로, acrylamide와 BIS와의 농도비는 36.5 : 1로 하였다. 적혈구막을 4% SDS 함유-시료혼합액에 넣어 90초간 중탕한 다음 slab gel(두께 : 1.5mm, 길이 13cm)에 40mg 썬의 단백량을 부가하여 plate당 30mA로 전기영동 하였으며 실내온도가 18°C 이하였으므로 냉각수를 순환시키지 않았다.

영동후 gel상에서 분리된 단백분획은 Coomassie blue로, 당단백 분획은 Periodic Acid-Schiff(PAS)시약으로 각각 염색하고 이들분획의 흡광도를 0.05mm slit를 통해 각각 550nm와 560nm에서 Hewlett-Packard사의 spectrophotometer의 gel scanner로 측정, 자동기록하였다.

## 결 과

**동물종간의 ESR 비교 :** 사람과 젖소 및 경주마의 전혈의 ESR을 90°와 45°도로 나누어서 측정한 것을 Table 1에 표시하였다. 이표에서 보는 바와 같이 Holstein 젖소에 비해 사람과 말에서 90° 각도나 45° 각도에서 또, plastic관이나 micro관 모두에서 ESR의 현저한 증가현상(사람 ;  $p < 0.05$ )을 보였다. 특히, 말에서는 엄청난 증가( $p < 0.01$ )를 일으켰다.

**동물종간의 적혈구막 단백질의 전기영동상 :** Fig 1의 왼쪽에 표시한 바와 같이 사람과 소, 말 적혈구막 단백질의 SDS-polyacrylamide 전기영동상은 대체로 비슷하였으나, 사람 것의 band 2와 3 사이에 해당하는 위치에서 소에서는 band Q의 흔적은 보였으나, 말에서는 사람의 것에서와 같이 전혀 나타나지 않았다. 그 외 단백질상에서도 말의 것은 사람의 것과 거의 일치함을 알 수 있다. band 3은 사람의 것에 비해 말에서 그 양이 조금 많았다. (34.7%)

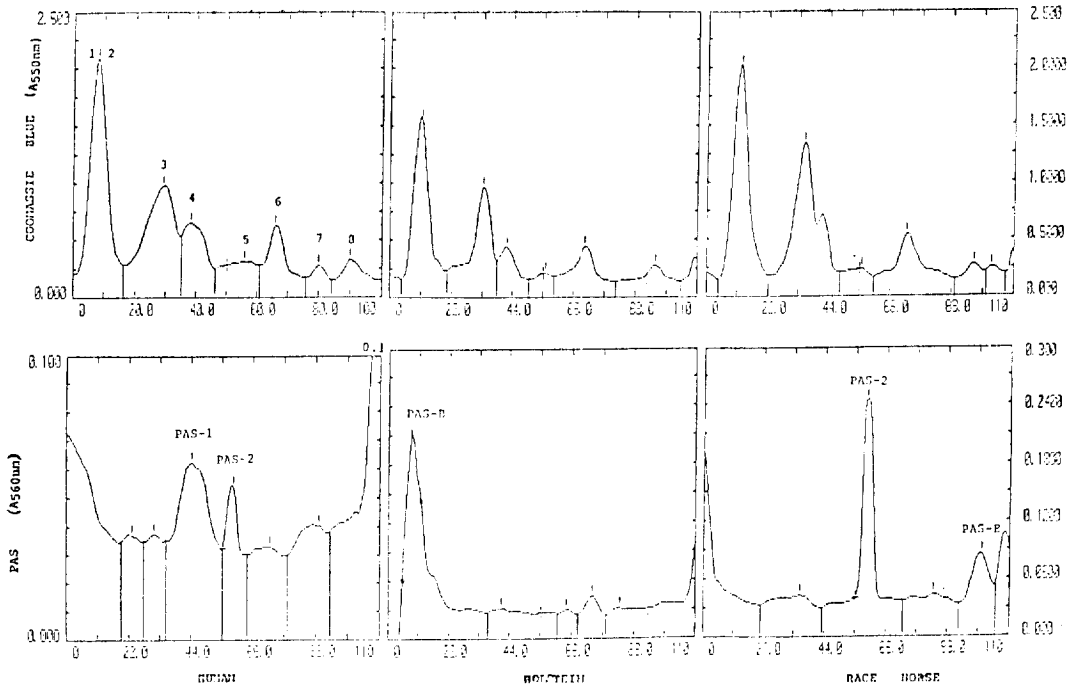
적혈구막의 당단백질을 PAS 염색으로 비교해 보면

(Fig 1의 아래) 젖소의 것에서는 사람의 것에 없는 PAS-B가 전기영동상의 원점 부위에 강한 양성분획(56.6%)으로 나타났고, 말에서는 사람 것의 PAS-2에 해당하는 위치와 똑 같은 부위에 사람의 것(12.7%)보다 더 많은 양(22.7%)이 나타나 이것을 역시 사람의 것에서와 같이 PAS-2라 명명하였으며, 또한 추적 염색(tracking dye) 바로 앞쪽에 사람과 소의 것에서는 없는 강한 PAS 음색분획이 세로이 나타나 본 연구에서는 이를 PAS-E라 명명하였다(18%).

## 고 찰

Fahracus<sup>32</sup>는 혈장 점도, 혈구나 혈장의 비중, 혈구의 크기 등에 의한 침강속도에 미치는 영향은 미약하고 마로 적혈구 연전형성 또는 응집이 침강속도에 미치는 가장 중요한 요인이라고 하였으며, Fegler<sup>33</sup>는 ESR이 상당히 빠른 말의 적혈구를 ESR이 극히 느린 소와 면양의 혈장에 섞어도 빠른 침강 속도를 나타내고, 반대로 소나 면양의 적혈구를 말의 혈장에 넣어도 느린 침강속도를 보였다. 이것은 동물종간의 ESR을 좌우하는 주가 된 소인이 적혈구 자체에 있다는 것을 시사한 것이며, 특히 적혈구 연전형성 또는 응집형성이 ESR을 촉진시킨다는 점임을 고려해 볼 때, 동물종간 적혈구막의 성상의 차이가 곧 종간의 ESR의 차이를 야기시킨다고 설명될 수 있다.

사람의 적혈구를 대상으로 한 연구<sup>1,9,10</sup>에 의하면 사람 적혈구막 단백질의 2/3를 점하는 polypeptid는 전기영동법으로 약 15종 정도가 검출되며, 이 중 세포막의 전체층을 세포막 외면으로 부터 내면까지 관통하고 있는 단백질은 2종류가 있다고 한다.<sup>1,2,3</sup> 그 하나는 glycophorin(PAS-1 당단백이라고 함)이고 나머지는 band 3은 integral protein으로서 anion channel 구실을 하는 단백질<sup>1,15</sup>로 알려져 있으며, 또한 사람 이외의 여러 포유류에서도 사람 적혈구와 비슷한 분포 및 막결합 양



**Fig 1.** Densitometric scans of Coomassie blue-stained polypeptides(above) and PAS-stained glycoproteins (below) of human, Holstein and race horse erythrocyte membranes.

상을 보이지만 glycophorin과 sialoglycoprotein과 같은 당단백질은 동물에 따라 다른 분포 및 막결합 양상을 보이고<sup>12</sup>, 이들 중 어떤 것은 적혈구의 성숙과 더불어 소실되어 간다는 사실이 짐토끼에서 보고되고 있다.<sup>13,34</sup>

일반적으로 적혈구막의 기능과 막단백분획과의 관계라든가 적혈구막에 있어서 막단백의 위치 등을 알고자 할 때는 적혈구나, 또는 이로부터 분리한 막분획에 trypsin과 같은 단백분해효소를 작용시켜 적혈구막의 외부나 또는 내부에 노출되어 있는 단백분획을 분해시켜 막기능의 변화나 전기영동상의 변화를 보는 것이 상례로 되어 있다.

소나 말의 적혈구막 단백질의 전기영동상에서 이들 주요 단백분획의 영동거리(이동도)가 사람의 것과 거의 일치한 것을 보면 소나 사람에게 있어 이들 단백질의 분자량의 동일함을 알 수 있다. 사람과 젖소에서 band 1, 2, 3의 양이 거의 서로 같았지만(band 1, 2<31.5%>, band 3<25%>), 말에서는 band 1, 2의 양(32.7%)이 사람과 젖소 것의 양과 비슷하였으나 band 3의 양(32.7%)은 사람과 젖소 것의 양보다 증가되어 있음이 주목되었다. 소에서의 band Q<sup>27</sup>는 사람과 말의 것에서는 전혀 나타나지 않음도 주목되었다.

Fig 1의 아래쪽 PAS염색의 그림을 보면, 소에서는 사람과 말에서는 없는 PAS-B<sup>27</sup>가 전기영동의 원점부위에 강하게 나타난 반면, 말에서는 사람의 PAS-2(12.7%)와 똑같은 PAS-2(22.7%)가 상당량 나타났으며, 아울러 전기영동 끝 부위에 사람과 소에서는 없는 새로운 강한 PAS 음성분획(본 연구에서 이를 PAS-E라 명명함)이 나타남도 크게 주목되었다.

한편, 말에서는 다른 동물에 비해 연전형성이 월등하기 때문에 ESR이 아주 빠르다<sup>35-37</sup>고 하였는데, 본 실험에서도 말의 적혈구 침강속도가 사람이나 소에서 보다 plastic-ESR에서 90°나 45°로나 30분이상(30분)의 증가 현상을 보였고, micro-ERS로도 90°나 45°에서 1.5mm이상(30분)의 증가경향을 나타내었다(Table 1).

일찌기, Winzler<sup>16</sup>는 사람 적혈구를 trypsin으로 처리하면 적혈구막의 당단백질인 sialoglycoprotein으로부터 sialoglycopeptide가 유리됨을 관찰하였으며, 또 그 후 Carraway<sup>8</sup>도 적혈구의 trypsin 처리로 적혈구막에서 sial 산이 유리됨을 보고 적혈구막 당단백질의 sial 산은 적혈구막의 외면에 노출되어 위치하고 있다고 하였다. 사람의 PAS-1은 반 이상(57%)이 sial산으로 구성되어 있으므로 소의 PAS-B에도 상당량의 sial

산이 함유되어 있을 것으로 생각되며, 아울러 말에서는 PAS-1은 없고 PAS-2와 PAS-E가 음극쪽보다 중앙과 양극 쪽에 위치해 있으므로 해서 sial 산 함량은 적을 것으로 사료된다. 적혈구막의 외면에 노출되어 있는 당단백질의 sial 산은 적혈구막 자체를 음전하로 대전케하는 것으로 결국 적혈구끼리의 연전형성을 억제케하는 요인이 된다. 따라서, 적혈구의 ESR과 막단백 분획과 상관시켜 보면, 소 적혈구의 느린 침강속도는 그 원인의 일부가 소의 적혈구에만 존재하는 band Q와 PAS-B에 있음에 시사한 반면, 말에서는 사람과 같이 band Q가 없고 band 3와 PAS-2가 사람것의 양보다 많고 아울러 새로운 PAS-E가 더 있으므로 해서 적혈구끼리의 연전형성이 촉진되고 그 결과적 혈구침강속도도 촉진될 것으로 생각된다.

## 결 론

사람과 동물 중에서 말의 적혈구 침강속도(ESR)가 제일 빠른 원인을 밝혀보려고 사람과 소, 말의 적혈구를 45°와 90°의 plastic-ESR과 micro-ESR로 각각 ESR의 촉진여부를 검색하고, 동시에 적혈구막 단백상을 sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel 전기영동법으로 분석하였다.

말의 ESR은 사람 것에 비해 plastic-ESR로는 33배(90°)와 2배(45°)로 빨랐다(30분). 소와의 비교는 엄청나게 말에서 빨랐다.

말의 적혈구막 단백질의 전기영동상은 대체로 사람의 것과 비슷하였으나 band 3의 양이 사람의 것과 비슷하였으나 band 3의 양이 사람과 소의 것의 양보다 조금 많았다. Periodic acid-Schiff(PAS) 염색으로 검색한 적혈구막의 당단백 분획상은 사람과 말, 소사이에 서로 큰 차이가 인정되었다. 즉, 사람 것의 PAS-1(glycophorin)의 당단백은 젖소와 말에서는 나타나지 않은 대신 소에서 전기영동상의 원점에 가까운 부위에 강한 PAS-B가 있으며, 말에서는 사람의 PAS-2와 똑같은 위치에 많은 양의 중성 분획이 나타나 이를 사람에서와 똑 같이 PAS-2라 명명하였고, 아울러 전기영동 끝부분에 강한 PAS-음성분획이 나타나서 이를 PAS-E라 명명하였다.

이상의 실험결과로 미루어 보아, 말 적혈구의 빠른 침강속도는 말 적혈구막의 band 3 단백질 분획의 양과, PAS-2와 PAS-E 당단백 분획의 존재에 일부 기인된 것으로 시준되었다.

## 참 고 문 헌

1. Steck TL. The organization of proteins in the

human red blood cell membrane. *Rev J Cell Biol* 1974;62:1~19.

2. 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.

3. 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.

4. 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.

5. Sweeley CC. Lipids of the erythrocyte. In: Jamieson GA, Greenwalt TJ, ed. Red cell membrane: structure & function. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1969;172~181.

6. Fairbanks G, Steck TL, Wallach DFH. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Bochem* 1971; 10:2606~2616.

7. Schrier SL. Human erythrocyte membrane enzyme: current status and clinical correlates. *Blood* 1977;50:227~234.

8. Carraway KL. Proteolytic enzyme treatment In: Ellory JC, Young JD, ed. Red cell membranes: a methodological approach. New York: Acad Press, 1982;239~250.

9. 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.

10. Reichstein E, Blostein R. Arrangement of human erythrocyte membrane proteins. *J Biol Chem* 1975;250:6256~6261.

11. Gratzler WB. The red cell membrane and its cytoskeleton. *Biochem J* 1981;198:1~8.

12. 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.
13. Koch PA, Gardner FH, Carter JR. Red cell maturation: loss of a reticulocyte-specific membrane protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1973;54:1296~1302.
  14. Marchesi VT, The red cell membrane skeleton: recent progress. *Blood* 1983;61:1~7.
  15. 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.
  16. 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.
  17. Steck TL, Fairbanks G, Wallach DFH. Disposition of the major proteins in the isolated erythrocyte membrane: proteolytic dissection. *Biochem* 1971;10:2617~2624.
  18. Zwaal RFA, Van Deenen LLM, Protein patterns of red cell membrane from different mammalian species. *Biochem Biophys Acta* 1968;163:44~49.
  19. Maddy AH. The solubilization of the protein of the ox-erythrocyte ghost. *Biochem Biophys Acta* 1964;88:448~453.
  20. Dresdner GW, Hein S, Siefmund MI. Study of the bovine erythrocyte: enzymatic activities of the cell and its membrane. *Arch Biochem Biophys* 1974;165:9~21.
  21. Fahraeus R. The influence of the rouleau formation of the erythrocytes on the rheology of the blood. *Acta Med Scand* 1958;161:151~165.
  22. 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.
  23. Nichols RE. A study of the phenomena of erythrocyte sedimentation. *J Lab Clin Med* 1942; 27:1317~1327.
  24. Plass ED, Rourke MD. A new procedure for determining blood sedimentation rates. *J Clin Invest* 1928;5:531-539.
  25. Rourke MD, Pless ED. An investigation for various factors which affect the sedimentation rate of the red blood cells. *J Clin invest* 1929; 7:365~386.
  26. Vacca C, Montemagno G, Persechino A, et al. Erythrocyte sedimentation in cattle and buffaloes: a general hypothesis. *Folia Veterinaria Latina* 1974;4:24~39.
  27. 朴榮宇, 李芳煥. 牛赤血球膜 蛋白質의 電氣泳動法에 의한 分析. *大韓獸醫學會誌* 1989;29(1):13~20.
  28. 이방환, 박영우. 만추동물 적혈구막 단백질의 전기영동법에 의한 분석. *大韓獸醫學會誌* 1989;29(4): 445~455.
  29. Bradford MB. Protein measurement with the bicinchoninic acid reagent. *Anal Biochem* 1976; 72:258~262.
  30. Dunn MJ. Bicinchoninic acid procedure. In: Harris ELV, Angal S, ed. *Protein purification methods: a practical approach*. IRL Press 1989; 13~16.
  31. Laemmli UK. Cleavage of structure protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature(London)* 1970;227:680~685.
  32. Fahraeus R. The suspension stability of the blood. *Acta Med Scand* 1921; IV:1~6.
  33. Fegler, G. Hemoglobin concentration, hematocrit value, and sedimentation rate of horse blood. *Q J Exp physiol* 1948;35:129~139.
  34. 韓亮燮. 家兎赤血球膜結合 acid phosphatase의 trypsin에 의한 失活과 lipase에 의한 加溶化. *전남의대잡지* 1975;12(3):671~674.
  35. Takagi S, Ito K, Shibata H. Effects of training on plasma fibrinogen concentration and thyroid hormone level in young racehorses. *Exp Rep Equine Health Lab* 1974;11:94~105.
  36. Osbaldiston GW. Erythrocyte sedimentation rate studies in dog and horse.
  37. Archer RK. Haematology in relation to performance and potential. *J S Afr Vet Ass* 1974;45 (4):273~277.