HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	血液の低温保存に関する研究 ： 特に血漿蛋白質の変化が赤血球に及ぼす影響について
Author(s)	佐々木, 芳郎
Citation	低温科學. 生物篇, 16, 139-150
Issue Date	1958-12-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17615
Type	departmental bulletin paper
File Information	16_p139-150.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

Yoshiro SASAKI 1958 Studies on the Cold Preservation of Blood. Especially on the effects of Stored Plasma Protein upon the Red Cell. *Low Temperature Science, Ser. B, 16.* (With English résumé p. 150)

血液の低温保存に関する研究

特に血漿蛋白質の変化が赤血球に及ぼす影響について*

佐々木芳郎
(低温科学研究所　医学部門)

(昭和 33 年 8 月受理)

緒　　言

全血液を長期間保存する場合その成分に種々の変化がみられる事は既によく知られているところであるが，とりわけ赤血球及び血漿蛋白質に見られる変化については既に数多くの研究が行なわれている[1),2),3),4)]。保存中の血液の変化の程度を知る指標としては，溶液に関する現象，例えば自然溶血及び低張溶液に対する赤血球の抵抗性が用いられる場合が多い。低温（+5°C 以下）に於ける保存によつても自然溶血は見られるが，採血後数週間を経なければ顕らかとならない。赤血球に著しい変化がおこる前に，体外に採り出した血液の各成分には夫々の成分に固有な，或いは相互の作用による変化が多かれ少なかれ進行しているであろう事は容易に想像される事である。それに関連して赤血球膜が可逆的に物質の透過性を変えることを報告した Straub 等[5),6)]の研究は特に注目さるべきである。また血漿蛋白質の性質については枚挙に暇のない程の研究が行なわれ[7)]，それらによつて得られた知見を保存に於ける変化の調査のために応用する事が可能となつた。しかるに保存血液の変化を追跡した研究は赤血球或いは血漿成分の夫々を単独に扱つたものが多く，両者の相互作用については赤血球膜の構造蛋白質と血漿リポ蛋白質或いは糖類との間の動的平衡など若干の示唆が行なわれている程度で系統的な知見は少ない。

われわれの研究室ではここ数年来血液の低温保存について一連の研究[8),9),10),11)]を行つて来た。その一部を担当した著者は，保存血液内での赤血球と血漿蛋白質との相互的な作用に注目し，保存血漿によつて赤血球の膨潤が促進される事実と保存血漿蛋白質，特にアルブミンの電気泳動速度が変化することを観察した。本論文はそれらの観察結果及び両現象間の関連性についての検討を記したものである。

* 北海道大学低温科学研究所業績　第 462 号

実験材料及び方法

実験材料としては北海道立血液銀行で採血したACD加人血*を用いた。

保存は+5°Cの恒温器中に血液輸送用保存瓶を置き，必要に応じて滅菌した注射器によつて抜取り，実験に供した。従つて保存中，血液は保存瓶に封入された時に与えられた気圧の下におかれた血球と血漿との相互作用をしる目的で，血球容積の変化を光の透過率及びヘマトクリットにより，血漿蛋白質の変化を電気泳動によつてしらべた。

赤血球容積の測定は容積1 mℓのヘマトクリットに試料を0.7～1.0 mℓいれ遠心沈澱を行う方法によつた。光の透過率測定は島津光電比色計及びブライス光電光度計を用い後に記す方法によつて行つた。

濾紙電気泳動には東洋濾紙製泳動箱を用い，寒天ブリッヂによつて塩化カリ液を満した電極槽と連結した緩衝液槽に濾紙の末端を浸し，巾1 cm当り1.5 mAの電流を室温（約18°C）で24時間通じた。緩衝液としてはpH 8.6のM/10ヴエロナール緩衝液を使用した。濾紙上に吸着した蛋白質の検出には，B.T.B.又はアミドシュウアルツによる染色によつて行つた。

チセリウス電気泳動法は日立HT-B型装置を用いて行つた。水槽内には氷水を満して1°Cに保ち泳動セル中に所定の方法で試料を入れ，8 mAの電流を一時間通じた。緩衝液にはM/15燐酸加里（第一及び第二塩）を用い所要のpHに調整した。

実験結果

1) 保存血漿が赤血球体積に及ぼす影響

保存中の血液に見られる変化として著明な溶血現象以外に赤血球の細胞体積及び型状の変

第1表 NaCl又は保存血漿による赤血球容積の膨潤

交替した液		赤血球容積（血液1 mℓ中のmℓ）	
種類	血液2 mℓ中の容量 (mℓ)	1,000 r.p.m. 30′	1,500 r.p.m. 40′
—	0	0.55	0.39
0.9% NaCl	0.5	0.63	0.42
〃	0.8	0.72	0.46
保存血漿 A	1.0	0.65	0.42
〃 B	1.0	0.68	0.46
〃 C	0.5	0.71	0.50
〃 C	1.0	0.77	0.53

保存血漿Aは採血直後に分離した血漿だけを3週間保存したもの，Bは全血のまま1週間保存して血漿を分離し，Cは全血のまま3週間保存してから血漿を分離したもの。

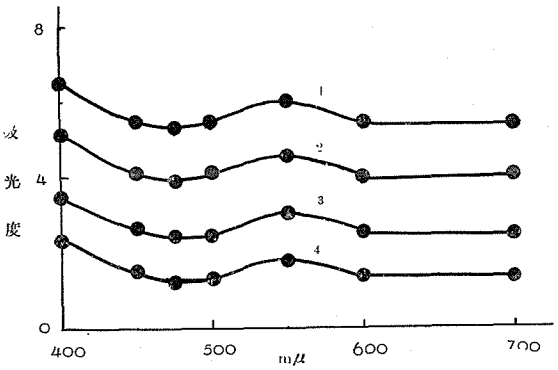
* クエン酸三ソーダ，1.3 g；グルコース，1 g；クエン酸，0.48 gに水を加えて100 mℓとした保存液にその5倍容の血液を加えたもの。

化もまたよく知られている。赤血球の体積は，それ自身の構造及び血漿成分とが互に作用しあつて維持されていることは周知の事実であるが，保存血液の血漿が赤血球体積に与える影響をしらべるために次の様な実験を行つた。

新鮮血液から分離（遠心 1,000 r.p.m. 15 分）して得た赤血球を，1) 分離した上清，即ち新鮮血漿，2) 0.9% 食塩水，3) 別に採血してあつた血液の保存血漿（全血のまま一定期間保存した後，血漿を分離し供試する迄凍結保存したもの）などにそれぞれ再浮游させ，37°C に 2 乃至 3 時間おいた後，ヘマトクリットで体積変化を観察した。実験結果の一例を第 1 表に示した。この実験で用いる赤血球と保存血漿とは別種の血液から得られるものであつて，その為に血球体積に変化がおこることが考えられる。表から知られる様に凍結保存した血漿* は，採血直後に分離したものでも赤血球体積の維持能力が新鮮血漿に劣り全血としての保存期間が長いもの程，赤血球の膨潤を促す様になる。一種の対照として 0.9% 食塩水に浮游させた血球の体積測定を行つたが，表にみられる様に，保存血漿中のものの最も小なる体積と一致した値が得られた。このことから保存血漿が赤血球の膨潤を促進するという表現を用いたのである。

赤血球体積をヘマトクリットによつて測定する方法では，血球浮游液の比重や粘度の効果を無視してよいかどうかの点で問題がある。又，その際に用いられる赤血球濃度は生理的条件に等しいが若しより稀い赤血球浮游液を用いれば血漿の作用がより著しくあらわれるのではなかろうかとも考えられる。それ故，Ørscov[12], Lefevre[13),14)] らによつて赤血球膜の透過性をしらべるのに用いられた浮游液の濁度の測定によつて上述の実験結果を確める試みを行つた。

この方法は，最近では，ミトコンドリア[15)] などの体積測定に用いられており，粒体による散乱光の測定と同等の結論を導くことが検討された。ミトコンドリアについて行なわれた実験によれば，測定波長（400 mμ 乃至 700 mμ）による結果の変動は殆んど見られず，顆粒の濃度，体積を求めることが出来る。この方法をミトコンドリアに比して，遙かに大型でヘモグロビンの強い吸収を有する赤血球に適用することはかなり危険であるが，Ørscov 以来経験的に得られた知識から浮游液の透過光が液内の細胞体積の相対的な大きさを示すとされている。赤血球浮游液でミトコンドリアのそれと同様な透過光についての検討を行ない次の様な結果を得た。



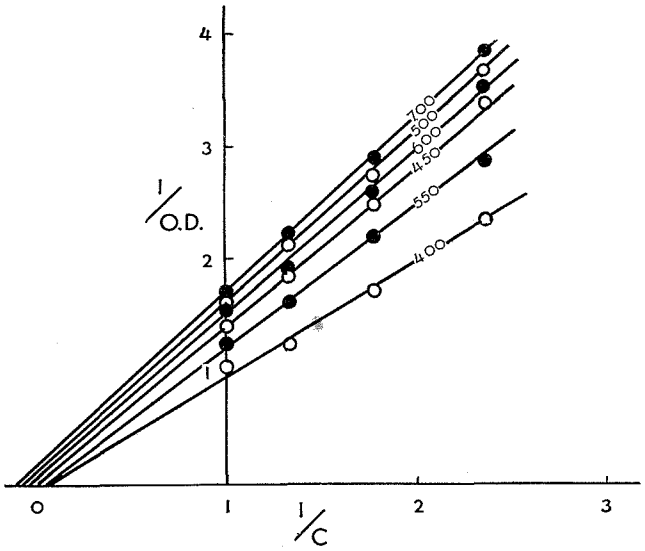
第 1 図　赤血球浮游液の吸光曲線

1) 血球濃度 0.3% (V/V), 2) 0.2%, 3) 0.15%, 4) 0.11%

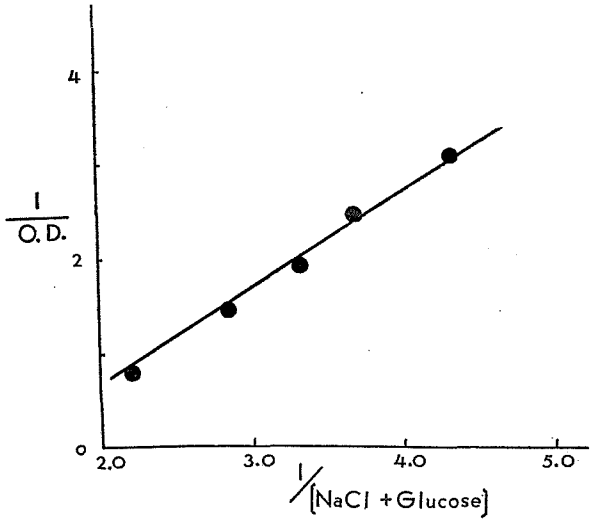
血球濃度を変えて，400 mμ と 700 mμ の間の吸収曲線を求めると，第 1 図に示した様に，各曲線は略平行し，吸光度の逆数（1/O.D.）と相対濃度の逆数

* 血漿を凍結保存すると，グロブリンの一種やリポ蛋白質が不溶性の沈澱を生ずる。実験にあたつて，之を遠心して除いて用いた。

(1/C) との間には直線的な関係が，各波長について見られる（第2図)。また，赤血球濃度を一定にして浮游液の滲透圧をグルコースによつて変えた場合にも 1/O.D. は，溶媒中の溶質濃度 (0.15 M NaCl と加えたグルコース濃度の和) の逆数との間に同様な関係が成立つ（第3図)。但し，第2図で見られる各直線と横軸との交点が同一点にないことは，赤血球体積と散乱光との関係は測定に用いられる波長によつて定まり，異なる波長によつて得られた値を簡単に比較し得ないことを示している。

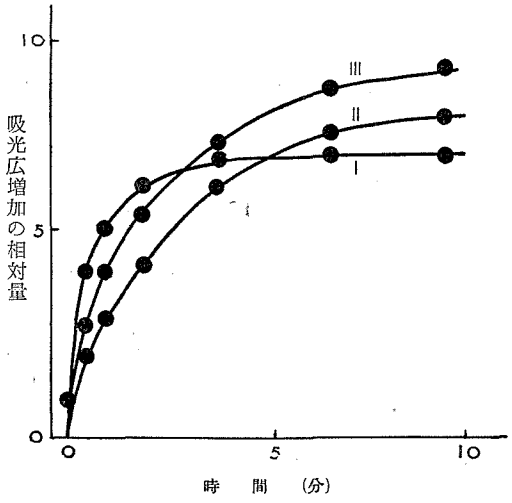


第2図　赤血球浮游液の吸光度 (O.D.) と赤血球濃度 (C) との関係
各直線上の数字は測定波長 (mμ)

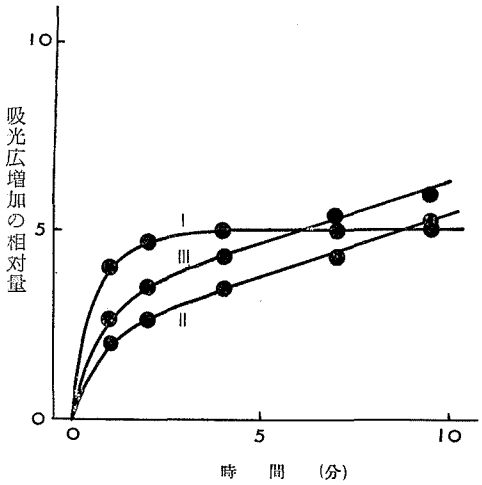


第3図　赤血球浮游液の吸光度 (O.D.) と滲透圧との関係

以上の実験から透過光の測定によつて赤血球体積を比較し得ることが明らかになつたので，ヘマトクリットによつて行つた場合よりもはるかに稀い赤血球濃度 (0.3%，V/V) に於ける保存血漿の効果を，上記の方法によつて観察した。この実験では，赤血球を予め 0.15 M の食塩水 (0.05 M $KHCO_3$ を添加して pH 6.7 に調整) に浮游させておき，その 10 mℓ に対し 3 M 或いは 1.5 M グルコース，1 mℓ を加え，グルコースの透過による細胞体積の変化及び之に対する保存血漿の影響を測定した。



第4図　グルコース添加による細胞体積の変化
赤血球を 0 日，8 日及び 14 日間保存血漿に浮游
終濃度 0.27 M グルコース添加
I 0日保存，II 8日保存，III 14日保存



第5図　グルコース添加による細胞体積の変化
終濃度 0.13 M グルコース添加
その他の条件は第4図と同じ

第4図及び第5図の各曲線によつて明らかなように，保存血漿は，その全血としての保存期間の長かつたもの程，グルコースの透過を抑制し，それによる体積増加を遅らせるが，グルコースの透過と関係のない赤血球膨張を誘起する。

以上の様に二種の実験方法によつて得られた結果は，保存血漿が血球の体積を増大させる効果を有すること，及びそれが滲透圧の変化に依存するものではないことを示すものである。また，保存血漿中に存在するヘモグロビン量は僅か (0.3%，W/V) 以下であつたが，0.5% まで溶血血液を加えて増加させても影響はみられなかつた。斯様にしてとにかく，全血の儘保存した場合に血漿成分にかなりの変化がおこり，その変化は赤血球の細胞膜に影響を与えるものであることが判つた。

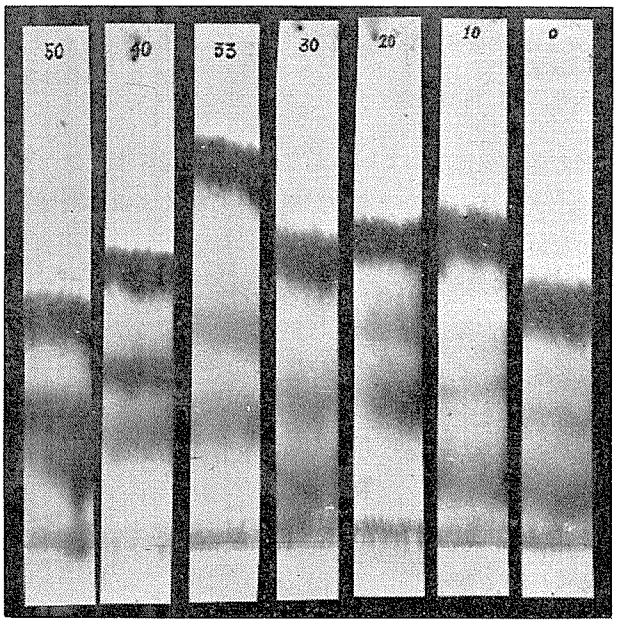
2) 血漿蛋白質の変化

a) 濾紙電気泳動法による観察

前節に述べた保存血漿の赤血球体積に及ぼす作用が血漿蛋白質の性質が変化することに依存する可能性を検討するために次の様な実験を行つた。

+5°C 又は −5°C に保存した血液を3乃至5日おきに，濾紙電気泳動を行ない，その易動度及び組成の変化を観察した。+5°C と −5°C との温度差がこの実験の結果に明らかな差異を示すことは殆んど見られなかつた。第6図に示した泳動像は +5°C に保存した血液についての結果で，各濾紙に記した数字は保存日数である。33日目のもの以外の泳動条件は全て等しく，図から血漿蛋白質のうち，最も電荷量の多いアルブミンの移動速度は，採血後日を経るにしたがつて変化することが知られた。アルブミン以外の成分についても移動速度の変化がうかがわれるが著しい現象ではない。

第7図は，第6図にかかげた濾紙のうち，0，10，20及び40日目のものを原点の1.5 cm後から1 cm おきに切り離し，その細片を夫々3 mℓ の 0.1 N の苛性ソーダで抽出し，溶解した B.T.B. (ブローム・チモール・ブルー) による波長 600 mμ の吸光度を測定した結果を示したものである。縦軸には濾紙抽出液の吸光度の総和に対する各細片の吸光度を100分率で示し，横軸は各細片中心の原点からの距離をあらわす。従つて，縦軸は濾紙に吸着した B.T.B. の相対量，横軸は，易動度を意味することになる。20日間保存した血液では溶血によるヘモグロビンの増加があり，後述のように B.T.B. と蛋白質との結合にも変化が生ずる[16]ので，縦軸に示される量が蛋白質の相対量をあらわすことは出来ない。また，この図から知られる様に，アルブミンは採血後10日間保存された時，最も速く移動する様になり，その後次第に遅くなる。また，アルブミン以外の成分については，それらの移動速度と共に血漿内での量的な変化がかなり見られるが，前述の様な B.T.B. との結合の仕方が，保存によつて変化するのみでなく，染



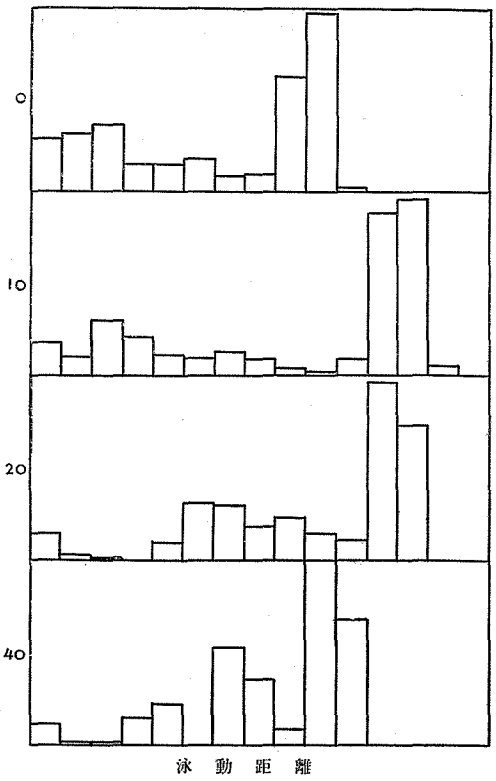
第6図 保存による血漿蛋白質の濾紙電気泳動像の変化 (本文参照)

色の際の条件によつても異なる（第6図の濾紙は，50日間保存の標品を泳動させた後，全部の濾紙を同時に同溶液で染色したものである）ので，それらについての明らかな傾向を把握することが出来なかつた。

b) チセリウス電気泳動による観察

濾紙泳動法によつて知り得た保存血液の血漿蛋白質—特にアルブミン—の移動速度の変化を，より確実に測定するためチセリウス装置による実験を行つた。

保存血液から遠心分離した血漿の組成を出来るだけ変えぬ様，透析操作を行なわず，pH 8.0の燐酸緩衝液（イオン強度0.3）を1/3容加えたものを試料蛋白液とした。この為各イオンの濃度は試料と緩衝液との間に大きな差が生じ，通常の泳動法で期待される上昇脚と下降脚の像の対称性を求めることが出来ず，易動度の測定は行なえなかつた。しかし，定性的な結論を得るための相対易動度を知ること及び蛋白組成の観察のための充分な再現性を有する結果を得ることは出来た。



第7図　第6図の炉紙に吸着したB.T.B.の分布比較（本文参照）

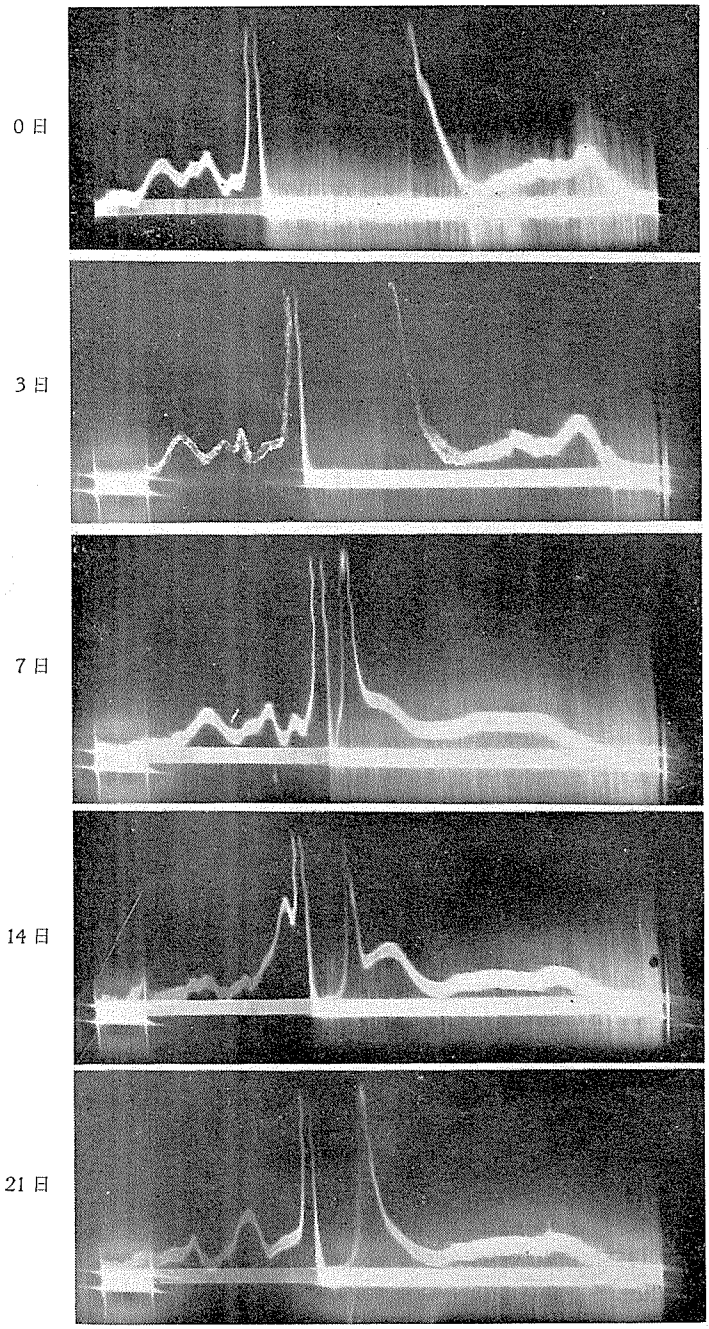
第8図は保存期間と共に，移動速度が変化する状況を示すもので，各図共等しい泳動時間（1時間）後に撮影した泳動像で，初界面は同一点にある様に配置した。図から知られる様に，各成分蛋白質の易動度は，一時大きくなり，その後再び小となつたが，各成分の相対的な量的変化は見られなかつた。

一般に上昇脚での移動は速やかで，分離像が明瞭なのであるが，この場合前述の様に蛋白溶液のイオン強度は >0.3 で，上昇脚のそれより，かなり大きい故下降脚での移動が早く，分離は遙かに悪くなつた。したがつて下降脚の泳動像からはアルブミンの相対易動度のみを測つた。

なお，透折した血漿あるいは，赤血球を分離して保存した血漿によつて行つた実験では上記の様な変化は殆んど観察し得なかつた。

c) 保存血漿の電気泳動速度に対するpHの影響

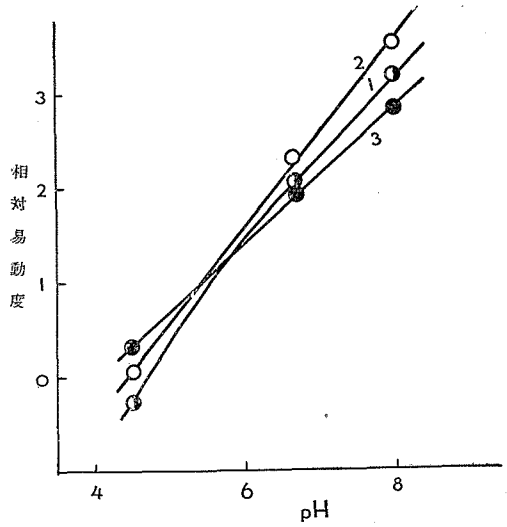
上述の如き保存血液の血漿蛋白質，特にアルブミンの電気泳動速度が変化する現象は，供試血漿を透折した場合では見られないことから，蛋白質の変性によるものとは考え難い。血漿内のイオンの分布が，採血時とは異なつた状態になることによつて，蛋白質表面のイオンの分



第8図 保存による血漿蛋白質のチセリウス電気泳動像の変化 (pH 8.0)

布もかなり変化するのであろう。この様な蛋白質表面のイオン状態の変化がどの程度のものであるかを知るために，泳動実験の際に用うる緩衝液の pH を変えて移動速度の観察を行つた。

新鮮血液（採血当日）及び保存血液（7日，21日保存）の血漿を前節と同じ要領で，緩衝液の pH 8.0，6.7，4.7 の三種について実験した。pH 以外の実験条件はすべて同一で燐酸緩衝液は 1/15 M.，温度は 1°C，電流は 8 mA で，泳動時間は1時間であつた。得られた泳動像から最も顕著な差を認め得るアルブミンについて，その移動速度の相対値と pH との関係を求めた結果第9図に示した様に保存による移動速度の変化は，実験の際に用いる緩衝液の pH で異なつた様相を示した。図によれば，保存によつて，アルブミンの等電点の変化が生ずることが推測される。前節の実験では，ある時期に電気泳動速度を増し，その後再び旧に復する如く見られたのであるが，それは pH 8.0 の緩衝液を用いた観察の場合であつて，pH の異なる緩衝液による実験から得た結果によれば，変化は可逆的なものではなく，等電点が次第に酸性側に移行する如き，即ち負の電荷が次第に多く蛋白表面に吸着されて行く様な現象が一方向きにおこつていることになる。



第9図　保存血液血漿のチセリウス電気泳動法によつて求めたアルブミン易動度に対する pH の影響
1：新鮮血　2：1週間保存　3：3週間保存

考　　察

以上に述べた実験の結果によつて保存血液の血漿蛋白質，特にアルブミンが，赤血球の容積維持能力を減殺するという断定を下す事は不可能である。しかし，アルブミンの生理的意義に就いて知らされている処[7]によれば，その作用はドナン膜平衡に関する寄与を含めて，血漿の滲透圧効果の大きな部分を占めているものと推測されている。それはアルブミンが蛋白質であり乍ら比較的分子量が小さいにもかかわらず，大きな負電荷を有する事実[7),17)]によつている。一方赤血球の表面は負に荷電していることが知られて居り，血液内での血球容積が単なる滲透圧の釣合のみによつて維持されているものでないことは明らかである。第1表の実験結果は，等張食塩水中での赤血球容積が，別な血漿に赤血球を浮游させた場合よりはじめの容積に近いことを示して居る。このことは血球の分散媒中の物質の濃度による影響がこの実験結果を支配しているものではないことを意味するものである。

チセリウス電気泳動法による保存血液の血漿蛋白質の研究は L. E. Krejci[18)] ら及 Moore[19)] らによつて可成り詳しく行なわれた。その結果によれば各成分蛋白質の相対的な量的変化は極

くわずかなもので，しかも長期に亘る保存によつてしかあらわれない。濾紙及びチセリウス泳動法によつて行なわれた，黒川，堀田[14]の研究報告は，蛋白成分の量的変化が比較的短期の保存によつて現われる様に見えるが，之はB.T.B.と蛋白の結合度が変化するからであると述べており，同じ結果を得たものと考えられる。

本実験の目的は血漿蛋白質の量的変化のみでなく，むしろ蛋白質と赤血球表面との相互作用を知ることにあつた。蛋白質の量的な変化を正確に求めることは，溶血の進行度を考慮して補正しなければならないので，これを行なわなかつたが著しい変化の認められる例はなく，之迄の報告と一致する。蛋白質と赤血球表面との相互作用を調べるために電気泳動法を用いた理由は前述の様に血漿蛋白質中アルブミンの電荷が注目されていた為である。結果から考えればアルブミン分子内の電子分布が変化したと云うよりは分子の表面に形成される電気二重層の電子密度の変化が生じたと見るべきである。何故ならば，保存した血漿を透折すると，殆んど変化が認められないからである。変化の程度又は性質は実験に用いた緩衝液の影響を多少うけていることが想像されるので，また実験に際してかなり濃い蛋白濃度を用い，不均一なイオン種の分布の下で泳動したので，蛋白質表面の電子密度の変化を算定することは出来ない。しかし与えた条件に於いて見られる現象は良好な再現性を有するので定性的には確かな事実と思考される。

若し蛋白質の表面の電荷に著しい増減がおこるとすれば，血球膜[20),21)]及びその内部と血漿との間に成立するイオンの平衡がずれて，その結果として血球容積の変化は速やかになるであろう。この様な蛋白質表層の電気的性質の変化が如何なる理由によつてもたらされるのであるかについては，今後の研究にまたなければならないのであるが，保存中の赤血球からは速やかにカリウムや燐酸イオンが排出されるし，その他の低分子成分も血漿に混入するであろうからその影響によることが予想される。また森[6]によれば，+5°Cに於ける保存によつて血液のpHが約1週間の間にpH8附近から6.5附近に低下する。この場合のpH測定に蛋白質自身の表面電荷の影響がどの様に及んでいるかについては明らかでないがこの様な変化の起因とも関係があるのではないかと考えられる。

要　　約

1) 保存血液の血漿によつて赤血球の膨潤が促進される現象を観察した。この場合用いた赤血球と血漿とは異なる個体から得たものであるので，その影響は当然考えられるが血漿は全血として保存された期間の長いもの程強い促進効果を示した。

2) 保存血液の血漿を濾紙電気泳動法によつて観察し，その変化を調べた処次のような結果を得た。

a) 約10日間保存した血液の血漿のアルブミンは特に泳動速度が大きくなり後次第に旧に復した。

b) 各血漿成分蛋白質と染色剤（例えばB.T.B.）との結合は保存によつて変化した。

3) 保存血液の血漿をチセリウス装置によつて泳動させ濾紙泳動法で知つたアルブミンの泳動速度の変化を確かめた。更に緩衝液の pH を変えて実験することにより泳動速度の変化が蛋白質表層の電荷の増加によるものであることを推論した。

保存血漿によつて赤血球の膨潤が促進される現象が血漿蛋白質の電荷の変動によつて惹き起される可能性を検討した。

おわりに当り終始御指導御鞭撻をたまわつた根井外喜男教授に深く感謝の意を表します。

文　献

1) Rous, P. and J. R. Turner, 1916 The preservation of living red blood cells in vivo. I, Methods of preservation. J. Exp. Med., ***23***, 219.
2) Ponder, E. 1924 The Erythrocyte and the Action of Simple Haemolysins. Oliver & Boyd, London, p. 3.
3) Kilduffe, R. A. and M. DeBakey, 1942 The Blood Bank and the Technique and Therapeutics of Trausfusions. The C. V. Mosky Company, St. Louis. P. 209.
4) Ponder, E. 1948 Hemolysis and Related Phenomena. Grune & Stratton, New York. P. 263.
5) Straub, F. B. 1953 Über die Akkumulation der Kaliumionen durch Menschliche Blutkörperchen. Acta Physiol., ***4***, 235.
6) Gárdos, G. 1954 Akkumulation der Kaliumionen durch Menschliche Blutkörperchen. Acta Physiol., ***6*** 191.
7) Hughes, W. L. 1954 Interstitial Proteins: The Proteins of Blood Plasma and Lymph, The Protein (H. Neurath & K. Bailey edt.) Interscience Publ. Co. II, 663.
8) 森　玄治 1956 血液の低温保存に関する研究，特に過冷却保存による赤血球の変化について．低温科学，生物篇，***14***, 47.
9) 根井外喜男・坂牛栄治・浅沼栄一・藤田英夫 1957 赤血球の電子顕微鏡的研究．低温科学，生物篇，***15***, 51.
10) 坂牛栄治 1957 血液の保存に関する研究．低温科学，生物篇，***15***, 57.
11) 藤田英夫 低温溶血に関する研究（仮題）．未発表．
12) Ørscov, S. L. 1935 Eine Methode zur fortlaufenden photo-graphischen Aufzeichnung von Volumänderungen der roten Blutkörperchen. Biochem. Zeit. ***279***, 241.
13) Lefevre, P. G. 1954 The Evidence for active Transport of Monosacharides across the Red Cell Membrane, Symposia of the Society for Experimental Biology (Cambridge Univ. Press) ***8***, 118.
14) Lefevre, P. G. 1954 Active Transport through Animal Cell Membranes. Protoplasmatologia, ***8***,
15) Tedesch, H. and D. L. Harris, 1958 Some observations on the photometric estimation of mitochondrial volume. Biochim. Biophys. Acta, ***28***, 393.
16) 黒川正子・堀田恭子 1957 血液の保存に於ける変化の研究．血液と輸血，***4***, 101.
17) Scatchard, G., Batchelder, A. C. and A. Brown, 1946 Preparation and properties of serum and plasma proteins: VI Osmotic equiliblium solutions of serum albumin and sodium chloride. Jour. Amer. Chem. Soc. ***68***, 2320.
18) Krejci, L. E., Sweeny, L. and E. B. Sanigar 1945 The electrophoretic analysis of stored liquid human plasma. Jour. Biol. Chem., ***158***, 693.

19) Moore, D. H., Roberts, J. B., Costello, M. and T. W. Schanberger, 1949 Factors Influencing the Electrophoretic Analysis of Human Serum. Jour. Biol. Chem., ***180***, 1147.
20) Surgenor, D. M. 1956 Blood : Some Functional Considerations. Currents in Biochemical Research (D. E. Green edt.) Interscience Publ. p. 653.
21) Ponder, E. 1957 The Red Blood Cell. 科学, ***27***, 243.

Résumé

For the purpose of elucidating the mutal interaction between the erythrocyte and blood plasma in the course of preservation of blood at low temperatures, following experiments were carreid out:

1) Using either haematocrit method or optical measurements, the effect of stored plasma and the permeability of glucose through red cell membrane was determined, where the stored plasma was separated and stocked under refrigeration after storage as whole blood for 0, 1 or 3 weeks.

2) Paper and Tisellius electrophoresis were adopted to determine the changes of the protein components of blood plasma preserved as ACD blood at 5° or −5°C.

As the experimental results, it was observed that in case of long storage (more than 3 weeks) of plasma as whole blood, the plasma caused the cell volume to enlarge, and the permeating velocity of glucose inside the red cell to decrease. During the course of preservation of blood, plasma proteins showed changed patterns in the electrophoretical analysis, especially in the electrophoretical movement of albumin. After one week of storage, albumin of the stored blood showed to move faster at pH 8 than that of fresh blood and then decrease its moving velocity when the storage was elongated to 3 weeks or more.

The pH dependence of electrophoretical mobility of plasma albumin was also changed during preservation of blood. and this was assumed to be caused mainly by the decrease of negative charges of albumin molecules which contribute most largely to colloidal osmotic power of plasma.

In view of these phenomena, the effects of preserved plasma on the red cell volume and its permeability was considered to depend, at least partly, upon the electrostatic interaction between the structural protein molecules of red cell membrane and plasma proteins of which electrostatic effect is in accord mainly with that of albumin.