

## 지방산 결합단백질과 인지질막 사이의 지방산이동기전

김 혜 경

한서대학교 식품생물공학과

### Mechanism of Fatty Acid Transfer between Fatty Acid Binding Proteins and Phospholipid Model Membranes

Kim, Hye Kyung

Department of Food and Biotechnology, Hanseo University, Seosan, Chungnam, Korea

Fatty acid binding proteins(FABP) are distinct but related gene products which are found in many mammalian cell types. FABP bind long chain fatty acids in vitro. However, their functions and mechanisms of action, in vivo, remain unknown. Also not known is whether all FABP function similarly in their respective cell types, or whether different FABP have unique functions. The purpose of the present study was to assess whether different members of the FABP family exhibit different structural and functional properties.

A comparison was made between heart(H-FABP) and liver(L-FABP). The results show that the binding sites of both FABP are hydrophobic in nature, although the L-FABP site is more nonpolar than the H-FABP site. Additionally, the bound ligand experiences less motional constraint within the H-FABP binding site than within the L-FABP binding site. In accordance with these differences in structural properties, it was found that anthroxyloxy-fatty acid transfer from H-FABP to membranes is markedly faster than from L-FABP. Moreover, the mechanism of fatty acid transfer to phospholipid membranes appears to occur via transient collisional interactions between H-FABP and membranes. In contrast, transfer of fatty acid from L-FABP occurs via an aqueous phase diffusion mechanism. (*Korean J Nutrition* 30(8) : 930~935, 1997)

**KEY WORDS** : fatty acid · fatty acid binding protein · lipid transport.

## 서 론

세포내에 존재하며 장쇄지방산에 결합하는 단백질 family가 20여년전에 처음 발견되어 지금까지 활발히 연구되고 있다<sup>1-3)</sup>. 이들 지방산 결합 단백질(Fatty acid binding proteins, FABP)들은 지방을 이용하는 많은 조직에서 밝혀졌으며 FABP가 존재하는 세포들은 다량의 유리 지방산을 합성 또는 산화과정에 이용하는 것으로 보고되었다<sup>4-8)</sup>.

FABP의 정확한 기능은 아직 알려지지 않고 있으나 그들의 분포 및 발현이 조직마다 특이성이 있어<sup>9)10)</sup> 각기 다른 조직의 FABP들이 서로 다른 기능을 가질수 채택일 : 1997년 7월 28일

있음을 시사한다. 그러나 아직까지 모든 FABP가 각 조직에서 같은 역할을 하는지 또는 다른 차이점이 있는지에 대해 전혀 보고된 바가 없다.

간(L-FABP)과 심장(H-FABP)의 FABP는 FABP family 중에서 제일 유사성이 적다. 이들은 sequence homology가 36%에 지나지 않는데, 반하여 H-FABP와 지방세포 FABP(A-FABP)는 62%의 유사성을 가진다. 더욱이 L-FABP와 H-FABP는 조직분포가 전혀 겹치지 않아서 L-FABP는 심장에 전혀 없고 H-FABP는 간에 전혀 존재하지 않는다<sup>11)12)</sup>. 또한 심장에서 지방산은 주로 산화작용에 이용되지만 간의 지방산은 동화와 이화작용 모두에 이용된다.

그러므로 본 연구에서는 제일 유사성이 적은 L-와 H-FABP의 물리화학적 성질을 비교하고 이들 FABP

에서 인지질막으로 지방산이 이동하는 속도 및 이동기전을 측정하여 이들에서 구조적, 기능적인 다양성이 있는가를 살펴보았다.

FABP에 결합한 지방산이 인지질막으로 이동하는 것은 매우 빠르게 일어나기 때문에 지금까지 알려진 분리기술로는 지방산의 이동속도를 측정할 수가 없다. 그러나 형광을 가진 지방산을 이용한 resonance energy transfer assay는 FABP와 인지질막을 분리할 필요없이 이동속도를 측정할 수 있다<sup>13)</sup>.

## 실험재료 및 방법

### 1. FABP 분리

L-와 H-FABP는 Sprague-Dawley rat 해당 조직의 cytosol에서 분리되었다<sup>14)</sup>. 간과 심장은 냉장 온도의 saline 용액으로 perfusion하여 혈액을 제거하고 K-PO<sub>4</sub> buffer(0.15M KCl, 0.01M 인산, PH7.4)로 균질화 시킨후 12,000g에서 20분간 원심분리하였다. 상층액을 다시 105,000g에서 1시간 원심분리하여 얻은 상층액을 cytosol 용액으로 사용하였다. cytosol 용액을 H<sup>3</sup>-oleic acid와 15분간 상온 방치하여 FABP와 H<sup>3</sup>-oleic acid를 충분히 결합시킨후 Sephadex G-50 gel, anion exchange column chromatography와 isoelectric focusing등에 의해 분리하였다. FABP에 결합된 H<sup>3</sup>-지방산의 제거를 위해 37°C에서 lipidex 1000 column을 이용하여 delipidation 시켰다<sup>15)</sup>.

각 FABP 분리후 그 순수도를 SDS-PAGE gel<sup>16)</sup>에 의하여 확인하고 농도는 Lowry법<sup>17)</sup>에 의해 측정하였다.

### 2. 인지질 모델막

인지질 모델막은 90mol%의 egg phosphatidylcholine(EPC)와 10mol%의 N-(7nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl) phosphatidylethanolamine(NBDPE)의 구성분을 가진 small unilamellar vesicle(SUV)를 만들어 사용하였다<sup>18)</sup>. 막의 인지질 농도는 무기인 정량으로 측정하였다<sup>19)</sup>.

이들 인지질막들은 TBS buffer(40mM Tris, 100mM NaCl, pH 7.4)에 녹여 사용하였다.

### 3. FABP 결합 부위 성질

FABP에서 지방산 결합부위의 물리적 성질을 살펴 보기 위해 stearic acid 탄소골격에서 7번째 및 12번째 탄소에 형광을 나타내는 anthroyloxy(AO)기가 붙어 있는 7-anthroyldxy stearic acid(7AS)와 12-anthroyldxy stearic acid(12AS)를 사용하였다. 12μM FABP와 1μM 12AS를 혼합하여 383nm에서 exci-

tation 시킨후 emission spectrum을 측정하였다.

Quantum yield(Q)는 0.1N 황산에 용해된 quinine sulfate에 상대되는 형광도를 측정하였다<sup>20)</sup>.

형광지방산의 quenching은 12μM FABP와 1μM 7AS가 혼합된 용액 120μl에 0.2M acrylamide 용액 5μl씩을 점차적으로 넣고 450mm에서 형광 quencher인 acrylamide를 넣기 전후의 형광도를 측정하였다. Data는 아래의 stern-volmer 공식에 의해 분석되었다.

$$I_0/I = 1 + K_{sv}[Q] \text{-----} (1)$$

여기서 I<sub>0</sub>와 I는 형광 quencher acrylamide를 넣기 전후의 형광도 이고 [Q]는 acrylamide의 mole 농도, K<sub>sv</sub>는 Stern-volmer quenching 상수이다<sup>21)22)</sup>.

### 4. 지방산 이동속도 측정

Fluorescence resonance energy transfer 방법을 이용하여 FABP에 결합된 형광지방산이 인지질막으로 이동하는 속도를 측정하였다<sup>23)</sup>. 이 실험에 이용된 형광 지방산은 2-anthroyloxy palmitic acid(2AP), 2-anthroyloxy stearic acid(2AS), 12-anthroyloxy stearic acid(12AS), 및 12-anthroyloxy oleic acid(12AO)가 사용되었다. Anthroyloxy(AO) group이 C 골격의 다른 위치에 붙어 있을 때의 실험 오차를 배제하기 위하여 AO기가 붙어있는 C 위치가 같은 지방산끼리 비교하였다. 즉 palmitic과 stearic acid를 비교하기 위해서는 2AP와 2AS를 사용하였고, stearic과 oleic acid 비교에는 12AS와 12AO를 사용하였다. 이들 형광지방산(AOFA)들은 10배 농도의 FABP와 15분간 상온에서 방치하여 지방산과 FABP가 충분히 결합하도록 한 후 FABP-AOFA 복합체와 형광 quencher인 NBDPE가 10mol% 들어있는 인지질막을 stopped flow를 사용하여 같은 양을 동시에 빠른 속도로 혼합하였다.

처음에는 형광성을 나타내는 AOFA가 FABP에 결합되어 있기 때문에 형광도가 최고치를 나타내지만 AOFA가 FABP에서 떨어져 나와 인지질 막으로 이동됨에 따라서 인지질막에 들어있는 quencher(NBDPE)에 의해 AOFA의 형광도가 감소하게 된다. 그러므로 시간에 따른 형광도의 감소를 plot하여 지방산 이동속도를 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. FABP 결합 부위의 물리화학적 성질

Table 1에 12AS(형광을 가진 AO기가 stearic acid의 12번째 탄소에 붙어 있다)가 L-및 H-FABP에 결합되었을 때의 스펙트럼 성질을 나타내었다.

**Table 1.** Spectroscopic properties of fatty acid bound to liver and heart fatty acid binding protein

	L-FABP <sup>1)</sup>	H-FABP <sup>2)</sup>
12AS <sup>3)</sup> emission maximum, nm	435	450
12AS quantum yield	0.55	0.16
7AS <sup>4)</sup> acrylamide Ksv <sup>5)</sup> , M <sup>-1</sup>	-	9.5

1) L-FABP : liver fatty acid binding protein

2) H-FABP : heart fatty acid binding protein

3) 12AS : 12-anthroyloxy stearic acid

4) 7AS : 7-anthroyloxy stearic acid

5) Ksv(stern-volmer quenching constants) were calculated using equation(1) in experimental methods and materials

AOFA의 최대방출 파장(emission maxima)은 FABP에 결합된 ligand의 구속정도를 나타내는 지표로 쓰이며 방출되는 파장이 낮을수록 구속정도가 높아진다. 12AS가 L-FABP에 결합되었을때의 방출 파장이(435nm) H-FABP에 결합되었을때 450nm보다 낮아서 H-FABP에 결합된 12AS가 L-FABP에 결합되었을때 보다 10nm 이상 긴 파장에서 방출되었다.

이 결과는 지방산이 L-FABP 결합부위에 있을 때 구속력이 보다 강하고 H-FABP에 결합되었을 때 구속력이 약함을 시사한다. 즉 지방산이 H-FABP보다 L-FABP와 더 강하게 결합하는 것을 나타낸다.

AOFA quantum yield는 주위의 극성정도를 측정하는 방법으로 값이 높을수록 극성정도가 낮아진다. 12AS quantum yield 결과는 L-FAP의 경우 H-FABP보다 3배 이상 높아서(Table 1) L-FABP의 지방산 결합 부위가 H-FABP 보다 극성도가 낮음을 알 수 있다. 결합부위의 극성도를 측정하는 또 다른 방법은 수용성이 크고 비수용성 media에서 녹지않으며 AOFA의 형광을 없애주는 quencher로 작용하는 acrylamide를 사용하여, FABP와 형광 지방산을 결합시킨 후 acrylamide를 넣어 acrylamide와의 quenching에 의한 형광 감소정도를 측정하는 것이다. acrylamide에 의한 형광 감소가 클수록 FABP의 지방산 결합 부위가 수용성 성질을 나타낸다. 즉 주위에 수용성이 많으면 acrylamide 와 결합하여 형광도의 감소가 커진다.

Table 1의 결과와 같이 L-FABP에 결합된 형광 지방산은 acrylamide에 의해 quenching 되지 않지만 H-FABP에 결합된 형광지방산은 크게 quenching 되어 H-FABP의 지방산 결합 부위가 L-FABP의 경우 보다 훨씬 더 수용성을 제시한다.

이상의 모든 결과는 간과 심장의 FABP 결합부위가 물리화학적 성질에 있어서 큰 차이가 있음을 보여 준다. 즉 L-FABP의 지방산 결합 부위가 H-FABP보다 ① 훨씬 더 소수성의 성질을 가지고 있고, ② 지방산이

**Table 2.** The rate of fatty acid transfer from liver and heart fatty acid binding protein

Fatty acid(AOFA) <sup>1)</sup>	L-FABP <sup>2)</sup>	H-FABP <sup>3)</sup>
2AS <sup>4)</sup> (18 : 0)	0.005±0.001	1.78±0.18
2AP <sup>5)</sup> (16 : 0)	0.014±0.001	1.11±0.18
12AS <sup>6)</sup> (18 : 0)	0.008±0.001	16.9 ±2.7
12AO <sup>7)</sup> (18 : 1)	0.013±0.002	15.2 ±2.1

Each value represents Mean ±SD of 8 different trials

1) AOFA : anthroyloxy fatty acid

2) L-FABP : liver fatty acid binding protein

3) H-FABP : heart fatty acid binding protein

4) 2AS : 2-anthroyloxy stearic acid

5) 2AP : 2-anthroyloxy palmitic acid

6) 12AS : 12-anthroyloxy stearic acid

7) 12AO : 12-anthroyloxy oleic acid

더 강하게 결합되어 있다.

Wootan등은 A-FABP와 H-FABP를 비교하여 H-FABP의 지방산결합 부위가 A-FABP보다 더 소수성을 나타내고 지방산결합 정도가 약함을 보고하여<sup>29)</sup> 유사성이 높은 이들 FABP도 지방산 결합부위의 차이점이 있음을 알 수 있다. 그러나 유사성이 높은 A-FABP와 H-FABP 사이의 차이는 본실험에서 나타난 L-FABP와 H-FABP의 차이보다 훨씬 작아서 FABP들간의 유사성과 물리화학적 성질 차이가 상관관계가 있을 것으로 사료된다.

## 2. FABP에서 인지질 막으로의 지방산 이동

20여년전 FABP가 처음 발견되고 분리된 이후 이들은 세포내의 지방산을 이동시키는 단백질로만 제시되었다. 그러나 위의 결과에서 FABP 사이에도 물리화학적 성질에서 큰 차이가 있는 것을 알 수 있다. 그러므로 그 외의 다른 기능적 차이가 또 있는지를 살펴보기 위하여 지방산 이동속도와 이동 기전을 비교하여 보았다.

### 1) 이동속도

L- 및 H-FABP에서 palmitic acid(2AP), stearic acid(2AS, 12AS), oleic acid의(12AO) 이동속도를 비교하였다(Table 2). 조사한 모든 지방산의 이동속도가 L-FABP에서 H-FABP 보다 100~2000배 느리게 나타났다. 이 결과는 결합 부위 성질에 대한 결과와 일치되어서 L-FABP는 결합 부위가 훨씬 소수성을 나타내고 결합된 지방산의 결합력이 크기 때문에 지방산이 L-FABP에서 떨어져 수용액의 buffer로 나오기가 더 어렵고 결과적으로 인지질막으로 이동되는 속도가 느린 것으로 추측될 수 있다.

이들 FABP에 대한 지방산의 친화도도 크게 달라서 stearic, oleic, palmitic acid의 친화도는 L-FABP가 H-FABP보다 4~30배 큰 것으로 보고되었다<sup>29)</sup>. 또한 L-FABP와 H-FABP를 흰쥐의 각조직에서 분리하였

을 때 L-FABP는 많은 양의 지방산이 결합된 상태로 분리되었으나 H-FABP는 결합된 지방산이 적었다<sup>25)</sup>. 그러므로 친화도가 큰 L-FABP에서 지방산이 떨어져 나와 이동되는 속도가 H-FABP보다 느린 것으로 추정된다.

2) 이동기전

지방물질이 한쪽의 소수성 환경에서 다른 쪽으로 이동하는 기전을 살펴본 많은 연구들에 의하면 대부분이 용액내에서의 확산에 의한다고 보고되었다<sup>26)27)</sup>. 소수성 물질의 이동에서 가능한 다른 방법은 충돌에 의한것이다<sup>27)</sup>. 물질이동의 기전이 확산에 의한것인지 충돌에 의한것인지를 실험적으로 구별하는데는 몇가지 방법이 있다.

예를들어 ①용액에서 소수성 물질의 용해도가 증가할수록 그 이동속도가 비례적으로 증가한다면 이것은 용액내에서의 확산에 의한 것임을 제시한다.

②용액의 조건을 변화시켜 그 용액내에서 소수성 물질의 용해도를 변화시켰을 때 이동속도가 영향을 받으면 확산에 의한 것이다. ③그러나 만약 충돌에 의해 소수성 물질의 이동이 일어난다면 충돌 횟수가 많아질수록 이에 비례해서 이동속도가 증가할 것이다.

그러므로 FABP와 결합된 지방산이 인지질막으로 이동하는 기전이 확산에 의한것인지를 측정하기 위하여 지방산의 용해도 및 지방산이 용해되어있는 용액의 조건을 변화시켜보았다. 또한 이동 기전이 충돌에 의한 것인지를 실험적으로 조사하기 위하여 인지질막의 농도를 증가시켜 인지질막과 FABP의 충돌횟수를 늘리고 이에 비례하여 이동속도가 증가하는지를 관찰하였다.

(1) 지방산의 용해도

지방산의 용해도는 C길이가 짧을수록 크고, 불포화 지방산이 포화지방산보다 크다. Table 2의 결과에서 L-FABP의 경우 palmitic acid(2AP, C16)의 이동속도가 stearic acid(2AS, C18)보다 3배정도 빠르고 oleic acid(12AO, C18 : 1)의 이동속도가 stearic acid(12AS, C18 : 0)의 이동속도보다 빨라서 용해도가 클수록 지방산 이동속도가 증가하였다. 그러나 H-FABP의 경우 palmitic acid(2AP)와 stearic acid(2AS), stearic acid(12AS)와 oleic acid(12AO)사이의 이동속도가 비슷하여 지방산 이동속도가 지방산의 용해도의 영향을 받지않았다. 그러므로 L-FABP에서의 지방산 이동은 용해도에 의존하는 확산에 의한 것이며 H-FABP에서의 지방산 이동은 용해도와 관계없이 일어나 확산에 의한 방법이 아닌것임을 제시한다.

(2) 용액의 조건 변화

FABP에서 인지질막으로의 지방산 이동기전을 측정키 위한 다른 방법으로 용액내 NaCl 농도를 OM에서 2M까지 증가하여 지방산의 용해도를 감소시켜 지방산 이동속도를 측정하였다. 소수성 물질의 용해도는 중성 염농도에 log상의 영향을 받으며 다음과 같은 Setschenow식에 의한다<sup>28)</sup>.

$$\log(S_0/S) = KsCs \text{ ----- (2)}$$

여기서 S<sub>0</sub>와 S는 몰과 중성염 용액에서의 소수성 물질의 mole 용해도이고 Ks는 salting out 상수, Cs는 중성염의 mole 농도이다. 그러므로 만약 지방산 이동속도가 그 용해도의 영향을 받는다면 염농도가 증가함에 따라 지방산의 이동속도는 log적으로 감소할 것이다.

Fig. 1에 나타낸바와 같이 L-FABP의 경우 NaCl 농도가 증가됨에 따라 지방산 이동속도가 log적으로 감소되어 지방산 용해도 감소가 이동속도에 크게 영향을 미치는 것이 다시 확인 되었다. 그러나 H-FABP의 경우 NaCl 농도가 증가되어 지방산 용해도가 감소 되었을 때 이동속도는 오히려 증가되었다. NaCl 농도가 증가되어 이온강도가 커지면 유동성 인지질막의 정열도(order)가 커진다<sup>29)</sup>. 그러므로 만약 H-FABP에서의 지방산 이동기전이 확산이 아닌 FABP와 인지질사이의 충돌에 의한 것이라면 인지질막의 이온강도 변화에 의한 물리 화학적 성질변화는 지방산 이동속도에 영향을 줄 것이고 NaCl 농도가 증가되어 인지질막의 정열도가 커지면 막에서 지방산이 떨어져 나오는 속도가 증

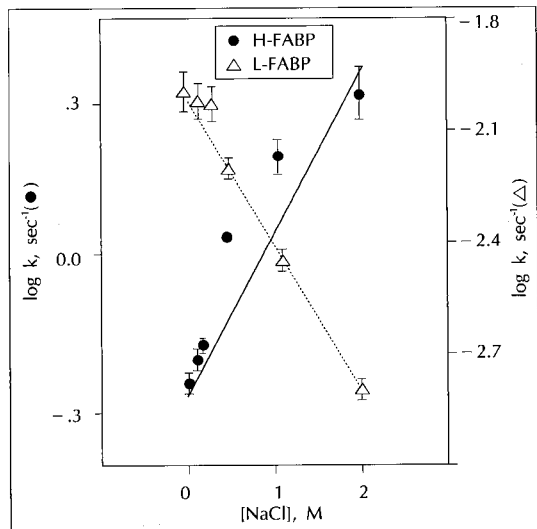


Fig. 1. Effect of NaCl on fatty acid transfer from liver and heart fatty acid binding protein. L-FABP : liver fatty acid binding protein H-FABP : heart fatty acid binding protein

가될 것이다. H-FABP에서 NaCl 농도 증가에 따른 이동속도 증가에 대한 또 다른 설명은 이온강도 증가로 인한 FABP표면의 전하 변화일 것이다. FABP에서의 지방산 이동에서 FABP와 인지질막이 충돌할 때 정전기적 작용이 중요하게 작용한다면 NaCl농도 증가로 FABP 표면의 전하가 감추어질 것이고 이에따라 이동속도도 영향을 받을 것이다<sup>30)</sup>. 이상의 결과는 L-FABP에서 지방산 이동은 확산에 의존하지만 H-FABP의 경우는 확산에 의한 방법이 아님을 시사한다.

### (3) 인지질 막 농도의 영향

지금까지의 실험결과 H-FABP에서 지방산 이동은 용액내 확산에 의한 것이 아닌것이 여러 가지로 증명되었다.

그러므로 충돌에 의한 지방산 이동 가능성을 더 직접적인 방법으로 측정하기 위해서 FABP와 인지질막의 이론적인 충돌횟수를 증가시켜 이동속도의 변화를 살펴보았다. FABP-지방산 복합체 농도는 일정하게 고정시키고 인지질막의 농도를 10~100배까지 증가시켰을

**Table 3.** The effect of phospholipid membrane concentration on palmitic acid transfer rate from liver and heart fatty acid binding protein

FABP : membrane (mol : mol)	L-FABP <sup>1)</sup>	H-FABP <sup>2)</sup>
1 : 10	0.005 ± 0.001	0.8 ± 0.07
1 : 50	0.005 ± 0.001	3.4 ± 0.4
1 : 100	0.005 ± 0.001	5.3 ± 0.7

Each value represents Mean ± SD of 8 different trials

1) L-FABP : liver fatty acid binding protein

2) H-FABP : heart fatty acid binding protein

**Table 4.** Transfer of fatty acid from liver and heart fatty acid binding protein to phospholipid membranes

	L-FABP <sup>1)</sup>	H-FABP <sup>2)</sup>
- Rate of transfer(12AS) <sup>3)</sup>	0.008	16.9
- Effect of increased fa chain length on transfer rate (↓ solubility)	↓	↔
- Effect of fa unsaturation on transfer rate (↑ solubility)	↑	↔
- Effect of increased ionic strength on fa transfer rate (↓ solubility)	↓	↑
- Dependence of fa transfer rate on membrane concentration	Independent	Dependent
- Transfer mechanism	Diffusion	Collision

1) L-FABP : liver fatty acid binding protein

2) H-FABP : heart fatty acid binding protein

3) 12AS : 12-anthroyloxy stearic acid

때 지방산 이동속도를 측정하였다(Table 3).

H-FABP의 경우 지방산 이동속도는 인지질막 농도에 비례하여 증가하는데 반하여 L-FABP는 인지질막 농도의 증가에도 이동속도에 변화가 없어서 H-FABP의 경우 지방산 이동이 충돌에 의한 것이며, L-FABP는 확산에 의한 기전임이 다시 증명되었다.

## 결론

FABP는 지방을 이용하는 여러조직에서 발견되었으며 장쇄지방산에 결합하여 그들의 이동을 도와준다. 그러나 그 정확한 기능이나 작용 기전은 알려지지 않고 있다. 본 연구는 이들 FABP간의 상호관계 및 작용기전을 추정하기 위하여 가장 유사성이 적은 간(L-FABP)과 심장(H-FABP)의 FABP를 본 결과를 Table 4에 요약하였다.

1) 지방산 결합 부위는 모두 소수성이지만 L-FABP의 경우 H-FABP보다 더 소수성을 나타내고 지방산과의 결합력이 더 강하다.

2) 이들 단백질에 결합한 지방산이 인지질막으로의 지방산 이동속도는 L-FABP의 경우 H-FABP보다 100~2000배 느리다.

3) 이들 단백질에서 인지질막으로 지방산이 이동되는 기전은 L-FABP의 경우 용해도에 영향을 받는 확산에 의하여 이동되는데 반하여 H-FABP의 경우는 용해도에 의존하지 않으며 주로 충돌에 의한 이동에 의존한다.

이와같이 L-FABP와 H-FABP가 이동속도 및 기전에 큰 차이를 보이는 것은 이들이 세포내에서 지방산을 이동하고 분포할 때 각기 특이한 기능을 할 수 있음을 시사한다. 즉 L-FABP는 세포내 지방산의 저장 pool로 작용하는데 반하여 H-FABP는 심장세포에서의 계속적인 산화작용을 위하여 빠르게 지방산 이동을 수행하는 기능을 하는 것으로 사료된다.

## Literature cited

- 1) Ockner RK, Manning JA, Poppen hausen RD, Ho WKL. A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa. *Science* 177 : 56-58, 1972
- 2) Mishkin S, Stein L, Gatmaitan Z, Arias IM. The binding of fatty acids to cytoplasmic proteins : binding to Z-protein in liver and other tissues of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 47 : 997-1003, 1972
- 3) Levi AJ, Gatmaitan Z, Arias IM. Two hepatic cytoplasmic protein fractions, Y and Z, and their possible role in the hepatic uptake of bilirubin, sulfobromophthalein, and other

- anions. *J Clin Invest* 48 : 2156-2167, 1969
- 4) Ockner RK, Manning JA. Fatty acid binding protein in small intestine, identification, isolation, and evidence for its role in cellular fatty acid transport. *J Clin Invest* 54 : 326-338, 1974
  - 5) Ockner RK, Manning JA, Kane JP. Fatty acid binding protein, isolation from rat liver, characterization, and immunochemical quantification. *J Biol Chem* 257 : 7872-7878, 1982
  - 6) Gordon JI, Alpers DH, Ockner RK, Strauss AW. The nucleotide sequence of rat liver fatty acid-binding protein mRNA. *J Biol Chem* 258 : 3356-3363, 1983
  - 7) Takahashi K, Odani S, Ono T. Isolation and characterization of the fractions (DE-I, DE-II and DE-III) of rat liver Z protein and the complete primary structure of DE-II. *Eur J Biochem* 136 : 589-601, 1983
  - 8) Offner GD, Troxler RF, Brecher P. Characterization of a fatty acid binding protein from rat heart. *J Biol Chem* 261 : 5584-5589, 1986
  - 9) Veerkamp JH, Paulussen RJA, Peeters RA, Maatman RGJ, van Moerke HTB, van Kuppevelt JHMSM. Detection, tissue distribution and sub cellular localization of fatty acid binding protein types. *Mol Cell Biochem* 98 : 11-18, 1990
  - 10) Bass NM, Manning JA. Tissue expression of three structurally different fatty acid binding proteins from rat heart muscle, liver and intestine. *Biochem Biophys Res Commun* 137 : 929-935, 1986
  - 11) Sacchettini JC, Said B, Schulz H, Gordon JI. Rat heart fatty acid binding protein is highly homologous to the murine adipocyte 422 protein and the P2 protein of peripheral nerve myelin. *J Biol Chem* 261 : 8218-8223, 1986
  - 12) Bass NM. The cellular fatty acid binding proteins : Aspects of structure, regulation and function. *Int Rev Cytol* 111 : 143-184, 1988
  - 13) Storch J, Kleinfeld AM. Transfer of long chain fluorescent free fatty acids between small and large unilamellar vesicles. *Biochem* 32 : 2053-2061, 1993
  - 14) Said B, Schulz H. Fatty acid binding protein from rat heart. *J Biol Chem* 259 : 1155-1159, 1984
  - 15) Glatz JFC, Veerkamp JH. Intracellular fatty acid binding proteins. *Int J Biochem* 17 : 13-22, 1985
  - 16) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T4. *Nature* 227 : 680-685, 1970
  - 17) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
  - 18) Huang C, Thompson TE. Preparation of homogenous, single-walled phosphatidylcholine vesicles. *Methods Enzymol* 32 : 212-235, 1974
  - 19) Gomori GA. Modification of the colorimetric phosphorous determination for use with the photo-electric colorimeter. *J Lab Clin Med* 27 : 955-960, 1942
  - 20) Scott TG, Spencer RD, Leonard NJ, Weber G. Cellular lipid binding proteins : expression, function, and nutritional regulation. *J Am Chem Soc* 92 : 687-695, 1970
  - 21) Lakowicz JR. In : Principles of Fluorescence Spectroscopy, pp. 257-274, Plenum Press, New York, 1983
  - 22) Campbell ID, Dwek RA. In : Biological Spectroscopy, pp. 91-121, Benjamin/Cummings publishing Co., Inc., Menlo park, CA, 1984
  - 23) Wootan MG, Bass NM, Bernlohr DA, Storch J. Fatty acid binding sites of rodent adipocyte and heart fatty acid binding proteins. *Biochem* 29 : 9305-9311, 1990
  - 24) Storch J, Bass NM. Transfer of fluorescent fatty acids from liver and heart fatty acid binding proteins to model membranes. *J Bio Chem* 265 : 2827-2831, 1990
  - 25) Glatz JFC, van Bilsen M, Paulussen RJA, Veerkamp JH, vander Vusse GJ, Reneman RS. *Biochim Biophys Acta* 961 : 148-152, 1988
  - 26) Dawidowicz EA Lipid exchange, Transmembrane movement, spontaneous movement, and protein-mediated transfer of lipids and cholesterol. *Curr Topics Membr Transp* 29 : 175-202, 1987
  - 27) Brown RE. Spontaneous lipid transfer between organized lipid assemblies. *Biochem Biophys Acta* 1113 : 375-389, 1992
  - 28) Long FA, McDevitt WF. Effect of salts on activity coefficients. *Chem Rev* 51 : 119-169, 1952
  - 29) Storch J, Kleinfeld AM. Transfer of long chain fluorescent free fatty acids between unilamellar vesicles. *Biochem* 25 : 17171-1726, 1986
  - 30) Schaffer JE, Lodish HF. Expression cloning and characterization of a adipocyte long chain fatty acid transport protein. *Cell* 79 : 427-436, 1994