

- 총 설 -
인지질 모델막에서의 지방산 이동에 관한 연구 방법

임병순[†] · 김혜경* · 김을상**

공주대학교 식품영양학과

*한서대학교 식품생물공학과

**단국대학교 식품영양학과

Research Method of Fatty Acids Transfer between
Phospholipid Model Membranes

Byoung-Soon Im[†], Hye-Kyung Kim* and Eul-Sang Kim**

Dept. of Food and Nutrition, Kongju National University, Yeosan 340-800, Korea

*Dept. of Food and Biotechnology, Hanseo University, Seosan 356-820, Korea

**Dept. of Food and Nutrition, Dankook University, Seoul 140-714, Korea

Abstract

Direct measurement of the kinetics of free fatty acid transfer between phospholipid model membrane is technically limited by the rapid nature of the transfer process. Separation of membrane-bound fatty acid by centrifugation has shown that although the equilibrium distribution of free fatty acid is determined by this method, fatty acid transfer occurs too rapidly for accurate kinetic measurements. Recently fluorescence resonance energy transfer(FRET) assay has been developed to examine transfer of fatty acids between membranes. Donor membranes which has fluorescent fatty acid, anthroyloxy fatty acid(AOFA), is mixed with acceptor membranes which has non-interchangeable fluorescent quencher, nitrobenzoxadiazol(NBD), using stopped flow apparatus. As the fluorescent fatty acids transfer from donor membrane to acceptor membrane, fluorescence intensity would be decreased and the rate and degree of fatty acid transfer can be analyzed. Fatty acid transfer between micelles is more complicated because of bile salt. Therefore in experiments with micelles, fluorescence self quenching assay is used. At high concentrations, a fluorophore tends to quench its own fluorescence causing a reduction in fluorescence intensity. Donor micelles contained self quenching concentrations of fluorophore and acceptor micelles had no fluorophore. Upon mixing of donor and acceptor micelles, the rate of transfer of the fluorophore from the donor to the acceptor was measured by monitoring the release in self quenching when its concentration in donor decreased over time.

Key words: fatty acid transfer, phospholipid model membrane, fluorescence resonance energy transfer assay

서 론

인체 내에서 생리적으로 다양한 기능을 갖는 지방산은 그 기능을 수행하기 위해서 수송·이용·저장 등의 일련의 단계적 과정을 거친다.

이러한 단계마다 지방산의 막 사이의 이동, 즉 세포막에서 미토콘드리아막으로 또는 세포막에서 소포체막으로의 이동이 필수적이며, 또한 유리지방산의 세포막을 통한 이동은 소화기관 내에서 지질의 흡수과정에서도 필수단계이다(1). 이와 같이 세포막을 통한 지방

산의 이동은 불가피한 것이며, 그 이동기전을 밝히기 위한 많은 실험방법들(2-4)이 보고되고 있다. 세포내에서의 지방산 이동(5-7)은 매우 빠르게 일어나기 때문에(millisecond에서 second단위) 지금까지 많이 쓰여온 방사성 동위원소를 붙인 지방산을 이용한 실험에서는 인지질 막에서의 이동이 끝난 후 이것을 분리해야 하는 번거로움이 있고, 또한 지방산 이동이 분리과정 보다 빠르게 일어날 경우에는 이동이 끝난 후 분배된 정도는 알 수 있으나 속도는 측정할 수 없는 단점이 있다. 그러므로 형광성 물질을 붙인 지방산(예를 들면 anthro-

[†]To whom all correspondence should be addressed

xyloxy fatty acids, AOFA)을 이용하여 형광광도계(spectrofluorometer)와 컴퓨터를 연결하여 형광성 물질의 이동을 모니터로 직접 측정하는 방법이 개발되었다. 형광성 물질을 이용하는 실험 초기에는 일반적으로 수작업에 의해서 donor membrane과 acceptor membrane을 cuvette에 넣어 손으로 섞어서 측정하였으나, 섞을 때 소모되는 시간(dead time)이 적어도 5초는 걸린다. 그러나 지방산(특히 짧은 지방산)의 이동은 아주 짧은 시간 내에 이루어지기 때문에 지방산의 이동 속도를 측정하기에는 거의 불가능했다. 이러한 측정의 기술적인 문제점을 극복한 새로운 방법이 최근에 개발되었다(2).

인지질 모델막(phospholipid model membrane)의 종류 및 특성

인지질 모델막은 세포막에 대한 많은 실험에서 사용되어 왔으며 생체막과는 많은 성분차이가 있어 단백질이나 다른 성분을 포함하지 않는 순수하고 단순한 인지질 이중층으로 구성되어 있지만 세포막에서의 어떤 기전을 연구할 때는 오히려 결과 해석이 용이하기 때문에 많은 실험에서 이용되고 있다(8-11).

가장 많이 이용되는 모델막을 크게 3종으로 분류하면 인지질 이중층이 여러겹으로 형성된 multilamellar vesicles(MLV, liposomes)과 인지질 이중층이 한겹으로 형성된 unilamellar vesicles 중에 크기가 작은 small unilamellar vesicles(SUV)과 직경이 더 큰 large unilamellar vesicles(LUV)이 있다.

Multilamellar vesicles(MLV)

인지질 이중층이 여러겹으로 둘러싼 vesicles을 말하며 MLV라고도 한다. 인지질이 용해되어 있는 유기 용매를 완전히 증발시켜 얇은 피막이 형성된 후 완충 용액에 녹이면 현탁액이 되며 양파껍질처럼 여러겹으로 된 인지질 이중층을 구성하게 된다(12).

이 vesicles의 직경은 5~50 μ m, 이중층의 수는 8~14 정도이며, 가장 바깥층에 존재하는 인지질은 총 인지질의 10% 미만이다(13).

Small unilamellar vesicles(SUV)

위에서 언급된 MLV는 만들기 쉬우나 크기가 너무 크고 층수가 너무 많아서 실험하는데 불편함이 있고 실험결과 해석이 어렵기 때문에 이를 초음파 분해하여 단층지방구로 만든 것이 small unilamellar vesicle이다. 초음파 처리할 때 생긴 티타늄(titanium)입자와

크기가 큰 vesicle을 제거하기 위해서 4°C에서 105,000g 속도로 45분간 초원심분리하여 얻은 상층액이 SUV이다. 일반적으로 SUV는 직경이 1000Å이하인 vesicles을 말하며, 총 인지질의 약 60~75%가 vesicle 바깥층에 존재하기 때문에(12) 수성상태로부터 쉽게 이용될 수 있다. 그러나 생체막과 비교하여 크기가 너무 작다는 단점이 있고 내부의 수용성공간이 너무 작아서 물질 수송 연구에 어려운 점이 있다.

Large unilamellar vesicles(LUV)

SUV와 마찬가지로 단층의 인지질 이중층을 갖지만, 일반적으로 직경이 약 1500~2500Å으로 SUV보다 큰 vesicle을 말하며(12), SUV의 단점을 보완하여 만든 모델막이다. LUV를 만드는 방법 중에서 가장 편리하고 최근에 많이 사용되는 것은 사출성형기법(extrusion techniques)이다(14,15). 사출성형은 MLV를 약 1 μ m의 미세한 구멍들이 있는 여과막을 15~29번 통과시켜 인지질 이중층의 수와 vesicle의 크기를 감소시킨다.

Micelle

위와 같은 vesicle 외에도 소화기관에서의 지방산 이동에 대한 연구에서는 micelle을 만들어 실험에 사용한다. Vesicle의 이중층을 형성하는 지질과 micelle을 형성하는 지질은 그들의 구조상 기하학적 배열이 크게 다르다. 즉 지방분자내에 있는 친수성 및 소수성기의 배열의 차이이다. 이중층 상태의 지질은 극성부분과 비극성부분이 비슷한 넓이를 차지하는 원통모양의 기하학적 구조(cylindrical geometry)를 나타낸다. 그러나 micelle을 형성하는 지방은 극성부분이 비극성부분보다 더 큰 넓이를 차지하여 거꾸로 놓은 원추모양(16)을 나타내며 중앙에 수용성 공간이 없다(Fig. 1). 평면 이중층에서는 인지질분자의 탄화수소사슬이 서로 가까이 있고 물과는 떨어져 있으며, vesicle에서도 소수성 꼬리는 중앙쪽으로 뻗어있고 친수성 머리는 밖의 물쪽을 향하고 있어 중앙에는 수성상태(aqueous phase)이다.

체내 소화과정에서는 인지질과 담즙염의 비례에 의해 어떤 형태의 지방구가 형성되는지 결정된다(1). 즉 인지질의 비율이 높으면 vesicle의 형태가 되고 담즙염의 농도가 높으면 주로 micelle이 형성된다(Fig. 2). 그러므로 소화기관내에는 이 두가지 형태의 지방구가 존재하며 지방이 흡수될 때도 두가지 형태의 지방구로 흡수된다(7,17).

혼합마이셀(mixed micelles)은 인지질과 담즙염으로 구성되며, 담즙염으로는 주로 taurodeoxycholate so

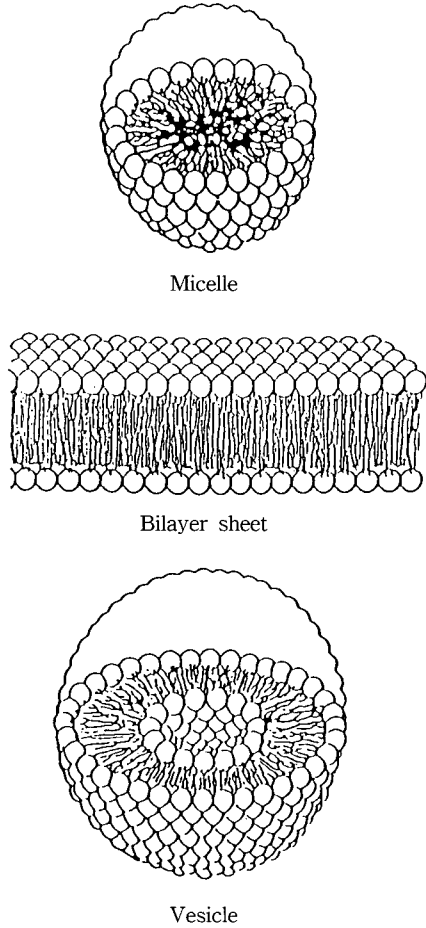


Fig. 1. Lipid polymorphism in phospholipids(16).

dium염이나 taurocholate sodium염을 사용한다.

Intermicellar concentration(IMC)

일정 농도의 micelle을 만들어 실험에 사용하기 위해서는, 건조된 인지질/지방산/담즙염의 혼합물을 적당한 농도의 완충액으로 희석하여 사용한다. 그러나 micelle의 크기와 숫자는 micelle의 구성성분 비율과 IMC의 영향을 받는다(18). 즉 담즙염의 농도가 인지질에 비하여 높으면 micelle의 크기는 작아진다. Micelle의 크기와 구성비에 영향을 주지 않는 담즙염용액 농도를 IMC라 한다. 그러므로 micelle의 농도를 변화시키고자 할 때 순수한 완충액으로 희석시키면 micelle내의 인지질과 담즙염의 농도 비율이 변화되어 그 용액내의 micelle의 크기와 숫자가 달라진다. 그러므로 인지질과 담즙염 비율의 변화없이 micelle 농도만을 변화시키려면 순수한 완충액 대신 적당한 담즙염 농도를 가진 완충액으로 희석시켜야 한다. 그러므로 micelle을 만들기 위해서는 우선 IMC를 측정하여야 한다(19). IMC를 측정하는 방법은 실험하고자 하는 micelle과 같은 양의 여러 다른 농도의 담즙염을 포함한 완충액을 차례로 섞어주어 광분산(light scattering)을 측정한다. 만약 완충액내의 담즙염 농도가 IMC 보다 낮으면 micelle의 담즙염 농도가 희석되므로 담즙염과 인지질 비율이 낮아져서 크기가 커진다. 반대로 완충액내의 담즙염 농도가 IMC 보다 높으면 완충액의 담즙염이 micelle로 들어가게 되므로 micelle의 담즙염과 인지질 비율이 높아지고 micelle 크기가 작아진다. 이 원리를 이용하여 micelle의 IMC를 결정하기 위하여, 즉 micelle 크기의 변화를 광분산을 측정하여 결정한다(18,19).

세포막을 통한 지방산의 이동

세포막에서의 이동기전에 대한 많은 연구가 되고 있지만 상반된 두 이론이 지금까지 계속되고 있다.

첫번째 이론은, 지방산은 세포막의 지질층을 단순확산에 의해 이동된다는 것이며, 두번째 이론은 막에 존재하는 운반 단백질에 의해 매개되어 이동된다는 것이다. 만약에 지방산이 세포막의 지질층을 통하여 충분히 빠른 속도로 이동된다면 단백질 매개 수송(protein-mediated transport)은 필요하지 않을 것이다. 짧은 지방산들은 지질소포의 이중층을 통하여 자연발생적으로 이동된다고 보고(2,3,6,9,20-22) 되고 있으나 긴사슬 지방산의 세포막 이동은 단백질이 매개한다는 연구 결과들이(10,11,23-30) 계속 보고되고 있어, 단백질 매개 수송기전에 대한 이론의 가능성이 높아지고 있다. 또

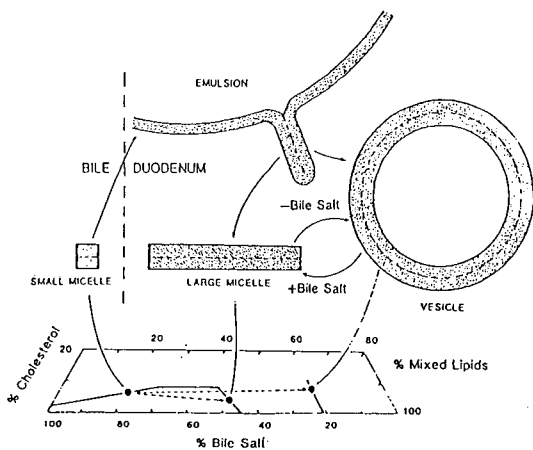


Fig. 2. Lipid phases present in the postprandial duodenum include emulsion particles, micelles and vesicles(1).

한 세포막에 존재하는 지방산 결합 단백질이 발견되어 이 가능성을 높여 주고 있다.

1986년 Storch과 Kleinfeld(2)는 세포막 사이에서의 긴사슬 지방산이 이동되는 과정을 운동역학적으로 Fig. 3과 같이 도형화하여 지방산 이동속도 측정을 위한 분석방법을 제시하였다. 여기에서 C₁, C₂, C₃, C₄, C₅는 각 구분된 영역에서 지방산의 시간에 따라 변하는 농도를 나타낸 것이며, C₁과 C₂는 공여체막의 안쪽층과 바깥층의 지방산 농도, C₃는 수성상태에서의 농도이며, C₄와 C₅는 수용체 막의 바깥층과 안층의 농도를 나타내었다. k₁₂는 세포막 안층에서 바깥층으로의 이동속도, k_{off}는 세포막 바깥층에서 수성상태로의 이동속도, k_{on}은 수성상태로부터 세포막 바깥층으로의 이동속도, k₂₁은 세포막 바깥층에서 안층으로의 이동속도를 나타낸 것이며, k₁₂와 k₂₁은 flip-flop 속도를 의미한다.

세포막에서의 지방산 이동 속도에 대한 이해를 돕기 위하여 이동단계에서 필요로 하는 자유에너지를 설명하면 Fig. 4와 같다. 지방산이 막으로 들어오기 위하여 세포막-물 계면에서의 자유에너지 장벽(free energy barrier)을 넘어야만 한다. Fig. 4는 막 이중층을 가로지르는 지방산의 단계별 배열과 각 단계별로 요구되는 자유에너지 사이의 관계를 도식화한 것이다(31). 위 부분은 인지질의 구조와 지방산의 배열을 나타냈으며 지방산의 극성머리부분이 지질-물 계면 쪽으로 위치하고 있는 것이 가장 안정된 구조이다. 아래 그림은 지방산이 수성상태에서 막쪽으로, 막에서 다시 다른쪽 수성상태로의 이동단계별 자유에너지 변화를 나타내었다. 지방산이 막의 바깥층에서 안쪽층으로 이동되기 위하여는 어느 정도 내부의 확산장벽을 통과하여야만 한다. 즉 자유에너지 ΔG_{ff}를 넘어야만 한다. 그리고 안쪽층에서 세포내부의 수성상태로 이동하기 위해서는 자유에

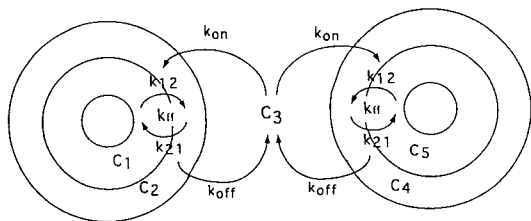


Fig. 3. Kinetic model of inter-vesicle transfer(31).
The concentrations of the fatty acid as a function of time in each of the five regions are C₁ for the inner leaflet of the donor, C₂ for the outer donor leaflet, C₃ for the aqueous phase, and C₄ and C₅ for the outer and inner acceptor leaflets, respectively. k_{ff}(k₁₂) is the transfer rate from inner to outer hemileaflet, k_{ff}(k₂₁) the reverse rate, and k_{off} is the rate of transfer from the outer leaflet to the aqueous phase. k_{on} is the rate of transfer from the aqueous phase to the outer leaflet.

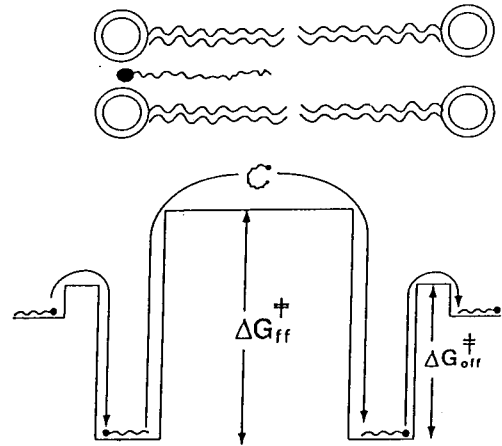


Fig. 4. Free energy scheme for transbilayer movement of fatty acid when flip-flop is rate limiting(31).
●: Free fatty acid ⊙: Phospholipid
ΔG_{ff}[‡]: Free energy for the movement of the fatty acid from the one hemileaflet to the other hemileaflet of the bilayer.
ΔG_{off}[‡]: Free energy for the movement of the fatty acid from the bilayer into the aqueous phase.

너지 ΔG_{off}[‡]의 장벽을 통과해야만 한다. 평형자유에너지는 수성상태에서 가장 낮고 이중층 안에서 가장 높다. 그러므로 ΔG_{ff}[‡]가 ΔG_{off}[‡]보다 큰 것은 지방산이 수성상태로 이동(off step)되는 것 보다 세포막 사이를 통과하는 것이 더 어려운 것을 의미한다. 대부분의 연구에서 off-rate이 flip-flop 속도의 약 10배 빠르다고 보고(2,3)되어, 이 가정을 뒷받침 해주고 있으며 flip-flop이 세포막에서의 지방산 이동속도에 조절단계로 보고(31)되고 있다.

세포막 이중층의 조성, 물리적 구조, 구성기구 등이 지방산의 flip-flop 속도에 영향을 주는 인자로 작용한다. 또한 지방산의 길이, 포화도 등이 영향요인이 된다. Vesicle의 크기가 클수록, 지방산의 길이가 길수록, flip-flop은 감소한다는 보고(2,3)가 있다.

그러나 생체내의 세포막에서의 지방산 이동속도는 매우 빠르기 때문에 순수한 인지질 모델막에서의 지방산의 flip-flop 속도가 매우 느리다면 이것은 세포막에 지방산 운반을 촉진하는 단백질이 존재한다고 추측할 수 있다

지방산이동의 측정방법

지방산의 이동은 매우 빠르게 일어나기 때문에 kinetic을 측정하기가 어렵다. 지금까지 주로 사용된 방법은 방사성 표지를 붙인 지방산을 이용하여(30,32,33) 인지질막과 반응시킨 후 원심분리에 의해 막과 결합된

지방산을 분리하여 측정하였다. 그러나 이 방법은 이와 같은 번거로운 단점이 있고 이동속도를 측정하기 위해서는 시간별로 반응시킨 후 분리하여 시간별 막에 결합된 지방산 양을 측정해야 하기 때문에 복잡하며, 또한 지방산 이동이 빠르게 일어나기 때문에 정확한 속도 측정에도 어려운 점이 많았다. 최근 형광성 표지를 붙인 지방산을 이용하여 지방산 이동 kinetic을 직접 측정할 수 있는 방법이 개발되었다.

Fluorescence resonance energy transfer(FRET) assay

세포막에서의 지방산 수송과 대사를 연구하는 실험에서 형광성 표지물질로서 anthracene과 nitrobenzoxadiazol(NBD)을 가장 많이 사용한다. Anthroyloxy fatty acid(AOFA)는 anthracene이 지방산 사슬의 어느 한 탄소에 에스터 결합된 지방산이며, 1970년 Waggoner와 Stryer(34)에 의해 처음 소개되어 지금은 많은 종류가 개발되었다. NBD는 anthracene이 형광을 나타내는 파장에서 빛이 흡수되기 때문에 anthracene의 형광을 흡수해 버리는 fluorescence quencher로서 이용된다. 최근 vesicle간에 지방산 이동속도를 측정하는데 많이 사용되는 FRET assay는 형광성 물질을 붙인 donor물질과 형광성 물질을 흡수하는 quencher를 붙인 acceptor물질 동량을 순간적으로 섞어 주는 stopped-flow 장치를 이용하여 시간이 경과함에 따라 나타나는 형광도의 감소를 컴퓨터 모니터로 직접 측정하는 방법이다.

공명 에너지이동(resonance energy transfer)은 형광을 흡수하는 방법 중의 하나이며, 한 형광물질로부터 다른 것으로의 비방사성 에너지 이동과정이다(7). 에너지 이동에서, donor 형광물질의 에너지는 여기상태로부터 기저상태로 돌아갈 때 acceptor 형광물질의 에너지는 동시에 기저상태에서 여기상태로 된다. 이와 같은 에너지 차이는 공명형태이고, 이것의 양적인 측정은 donor의 방출스펙트럼과 acceptor의 흡수스펙트럼이 겹침으로써 측정된다(Fig. 5).

Donor에 붙인 AOFA는 anthroyloxy group의 최대 파장인 383nm에서 빛을 흡수하여 여기상태가 되며 약 450nm에서 최대의 형광을 나타낸다. NBD는 460nm에서 최대한으로 빛을 흡수하고 534nm에서 최대의 형광을 나타낸다. 그래서 450nm에서는 acceptor막에 존재하는 NBD의 흡수파장이 되고, NBD 흡수는 donor의 anthroyloxy(AO)와 acceptor의 NBD가 어느 일정한 거리(200Å)로 가까워져야만 일어나기 때문에 donor막에 결합된 AOFA가 acceptor막에 가까이 다가가서 형광성 지방산이 acceptor막으로 이동함에 따라 AO의 형광이

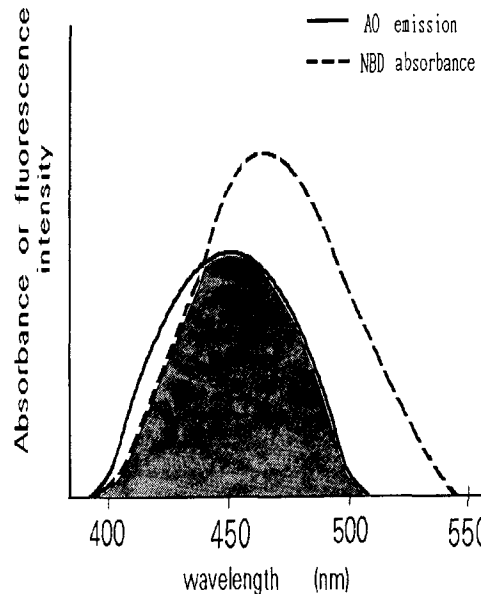


Fig. 5. Overlap of the emission spectra of anthroyloxy(AO) with the absorption spectra of nitrobenzoxadiazol (NBD).

NBD에 의해 흡수되어 형광은 감소하게 된다. 여기에서 AO 형광의 흡수는 donor막에서 acceptor막으로의 지방산 이동을 의미한다. 그러므로 시간이 경과함에 따라 지방산 이동이 일어나고 형광도가 감소하는 것을 관찰할 수 있으며 형광도의 감소속도 및 정도를 측정하여 지방산 이동속도 및 정도를 측정할 수 있다.

Donor vesicle에 형광성 지방산을 약 2~3mol% 넣어서 상온에서 일정시간 방치하면 형광을 띠는 지방산이 donor vesicle에 포획되어 형광이 최대가 된다. Acceptor vesicle은 10mol% NBD를 포함하는데, 이 양은 같은 donor vesicles에 있는 98~99%의 AO형광을 흡수하는데 충분한 양이다(2). 이렇게 만들어진 donor와 acceptor vesicle은 stopped-flow가 부착되어있는 형광광도계를 이용하여 짧은 시간내에 같은 양의 donor와 acceptor가 섞이게 되면 donor vesicle에 있던 형광성 지방산이 acceptor vesicle로 이동되고, AOFA의 형광이 acceptor에 있는 NBD에 의해 흡수되기 때문에 0시간에는 최대 형광을 나타내지만 점차적으로 형광이 감소되어 그 반응이 평형에 도달할 때까지 관찰할 수 있고 이 감소되는 곡선을 가지고 이동속도와 정도를 측정할 수 있다(Fig. 6).

Fluorescence self-quenching assay

Micelle에서의 지방산 이동속도를 측정하기 위해서는 fluorescence self-quenching assay가 많이 사용

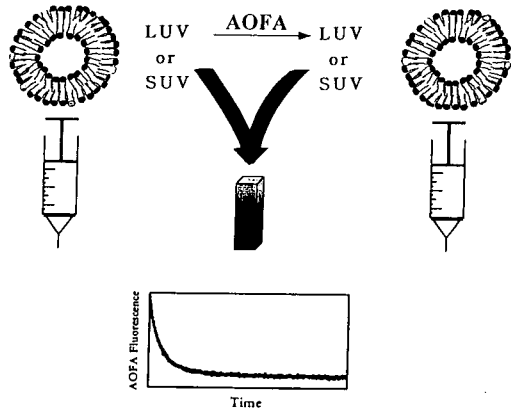


Fig. 6. Fluorescence resonance energy transfer(FRET) assay.
 LUV: Large unilamellar vesicle
 SUV: Small unilamellar vesicle
 AOFA: Anthroyloxy fatty acid

된다(7).

평형상태의 micelle용액에서 그 구성성분, 즉 인지질, 지방산과 담즙염들은 일정하게 주변의 다른 micelle로부터 교환되고 있다. 만일 micelle의 한 구성성분, 예를 들어 지방산의 한 부분이 형광성이 있다면 그 micelle은 형광성 빛을 발할 것이다.

이때 형광을 가진 물질(예를 들어 AOFA)이 작은 양일 때는(0~5mol%) 형광성 물질의 농도와 형광정도는 직선관계를 나타낸다. 그러나 형광물질의 양이 5mol% 이상으로 증가되면 형광물질끼리 서로가 형광을 흡수

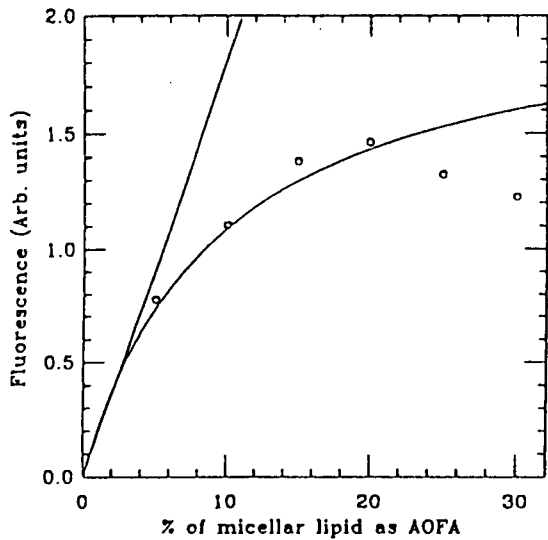


Fig. 7. A sample plot of the experimental data illustrating the Stern-Volmer relation(7).

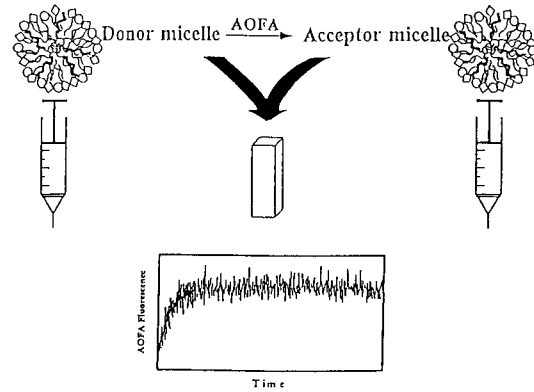


Fig. 8. Fluorescence self-quenching assay.
 AOFA: Anthroyloxy fatty acid

하여 형광도가 감소하게 되고 그 농도가 아주 높아지면 형광도도 크게 감소되며(Fig. 7), 이러한 현상을 self-quenching이라 한다(7). 그러므로 micelle 사이에서 지방산 이동속도를 측정하기 위해 한쪽 micelle(donor)에는 높은 형광성 지방산 농도를 갖고 있고 다른 쪽 micelle(acceptor)에는 형광성 지방산이 없는 방법을 이용하면 donor micelle에서 처음에는 높은 형광성 지방산끼리 self quenching으로 형광도가 낮았지만 점차로 형광성 지방산이 acceptor micelle로 이동됨에 따라 형광도가 증가될 것이다(Fig. 8). 혼합반응이 평형에 도달할 때 모든 micelle은 형광성 지방산의 비율이 같아진다. 이와 같이 시간이 흐름에 따라 형광도 변화가 관찰되어지며, 이러한 변화는 micelle 안에서의 형광성 지방산의 이동을 측정하는데 사용될 수 있다.

요 약

세포막에서의 지방산 이동은 매우 빠르게 일어나므로 방사성 원소를 사용해서는 여러가지 단점이 있고, 정확한 이동속도 측정에도 어려움이 많았다. 최근에 개발된 FRET assay는 형광성 물질과 형광성 물질을 상쇄시키는 quencher를 사용한 실험방법이다. 이는 공명 에너지 이동의 원리를 이용한 것으로 형광광도계, stopped-flow 장치를 사용하여 소수성 물질 이동을 직접 컴퓨터 모니터로 측정하는 방법으로 기존방법의 단점을 보완하였다. Donor막에는 형광성 표지를 붙인 지방산이 들어있고 acceptor막에는 형광을 흡수하는 물질이 들어있어서 형광성 지방산이 donor에서 acceptor로 이동하면 형광도가 감소하며, 시간에 따른 형광도 감소를 측정하여 지방산 이동속도를 측정하는 방법이다. 형광성 표지를 이용하여 소수성 물질 이동에 사용되는 또 다른 방법은 self-quenching assay이다. 형광 물질의

농도가 높아지면 서로 형광을 흡수하는 성질을 이용한 방법으로 주로 micelle에서의 물질 이동에 많이 쓰인다. Donor micelle에는 높은 농도의 형광성 지방산이 들어있고 acceptor micelle에는 형광성 지방산이 들어있지 않을 때 형광성 지방산이 donor에서 acceptor로 이동하면 형광도가 증가하게 되고 시간에 따른 형광도 증가를 측정하는 방법이다.

문 헌

- Carey, M. C., Small, D. M. and Bliss, C. M. : Lipid digestion and absorption. *Annu. Rev. Physiol.*, **45**, 651 (1983)
- Storch, J. and Kleinfeld, A. M. : Transfer of long-chain fluorescent free fatty acids between unilamellar vesicles. *Biochemistry*, **25**, 1717(1986)
- Kleinfeld, A. M. and Storch, J. : Transfer of long-chain fluorescent fatty acids between small and large unilamellar vesicles. *Biochemistry*, **32**, 2053(1993)
- Kamp, F., Westerhoff, H. V. and Hamilton, J. A. : Movement of fatty acids, fatty acid analogues, and bile across phospholipid bilayer. *Biochemistry*, **32**, 11074 (1993)
- Kamp, F. and Hamilton, J. A. : pH gradients across phospholipid membranes caused by fast flip-flop of unionized fatty acids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 11367(1992)
- Kamp, F., Zakim, D., Zhang, F., Noy, N. and Hamilton, J. A. : Fatty acid flip-flop in phospholipid bilayers is extremely fast. *Biochemistry*, **34**, 11928(1995)
- Narayanan, V. S. and Storch, J. : Fatty acid transfer in taurodeoxy cholate mixed micelles. *Biochemistry*, **35**, 7466(1996)
- Doody, M. C., Pownall, H. J., Kao, Y. J. and Smith, L. C. : Mechanism and kinetics of transfer of a fluorescent fatty acid between single-walled phosphatidylcholine vesicles. *Biochemistry*, **19**, 108(1980)
- Nichols, J. W. and Pagano, R. E. : Kinetics of soluble lipid monomer diffusion between vesicles. *Biochemistry*, **20**, 2783(1981)
- Kim, H. K. and Storch, J. : Free fatty acid transfer from rat liver fatty acid-binding protein to phospholipid vesicles. *J. Biol. Chem.*, **267**, 77(1992)
- Kim, H. K. and Storch, J. : Mechanism of free fatty acid transfer from rat heart fatty acid-binding protein to phospholipid membranes. *J. Biol. Chem.*, **267**, 20051 (1992)
- Yeagle, P. L. : *The membranes of cells*. 2nd ed., Academic Press, CA, p.18(1993)
- Jain, M. K. and Wagner, R. C. : *Introduction to biological membranes*. Wiley, NY(1980)
- Hope, M. J., Bally, M. B., Webb, G. and Cullis, P. R. : Production of large unilamellar vesicles by a rapid extrusion procedure. *Biochim. Biophys. Acta*, **812**, 55 (1985)
- MacDonald, R. C., MacDonald, R. I., Menco, B. M., Takeshita, K., Subbarao, N. K. and Hu, L. R. : Small-volume extrusion apparatus for preparation of large unilamellar vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, **1061**, 297(1991)
- Brody, T. : In "Nutritional biochemistry" Academic Press Inc., CA(1994)
- Hernell, O., Staggers, J. E. and Carey, M. C. : Physical-chemical behavior of dietary and biliary lipids during intestinal digestion and absorption(2). *Biochemistry*, **29**, 2041(1990)
- Mazer, N. A., Benedek, G. B. and Carey, M. C. : Quasielastic light scattering studies of aqueous biliary lipid system, mixed micelle formation in bile salt-lecithin solution. *Biochemistry*, **19**, 601(1980)
- Nichols, J. W. : Phospholipid transfer between phosphatidyl-choline-taurocholate mixed micelles. *Biochemistry*, **27**, 3925(1988)
- Kleinfeld, A. M. : Transport of free fatty acids across membranes. *Comments on molecular and cellular biophysics*, **6**, 361(1990)
- Gutknecht, J. : Proton conductance caused by long-chain fatty acids in phospholipid bilayer membranes. *J. Memb. Biol.*, **106**, 83(1988)
- Daniels, C., Noy, N. and Zakim, D. : Rates of hydration of fatty acids bound to unilamellar vesicles of phosphatidyl-choline or to albumin. *Biochemistry*, **24**, 3286 (1985)
- Schwietzman, W., Sorrentino, D., Potter, B. J., Rand, J., Kiang, C. L., Stump, D. and Berk, P. D. : Uptake of oleate by isolated rat adipocytes is mediated by a 40 kDa plasma membrane fatty acids binding protein closely related to that in liver and gut. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 359(1988)
- Sorrentino, D., Robinson, R. B., Kiang, C. L. and Berk, P. D. : At physiologic albumin/oleate concentrations oleate uptake by isolated hepatocytes, cardiac myocytes, and adipocytes is a saturable function of the unbound oleate concentration. *J. Clin. Invest.*, **84**, 1325(1989)
- Berk, P. D., Wada, H., Horio, Y., Potter, B., Sorrentino, D., Zhou, S. L., Isola, L., Stump, D., Kiang, C. L. and Thung, S. : Plasma membrane fatty acid-binding protein and mitochondrial glutamic-oxaloacetic transaminase of rat liver are related. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 3484(1990)
- Storch, J., Lechene, C. and Kleinfeld, A. M. : Direct determination of free fatty acid transport across the adipocyte plasma membrane using quantitative fluorescence microscopy. *J. Biol. Chem.*, **266**, 13473(1991)
- Bojesen, I. N. and Bojesen, E. : Fatty acid-binding to erythrocyte ghost membranes and transmembrane movement. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **98**, 209(1990)
- Kumar, G. B. and Black, P. N. : Bacterial long-chain fatty acid transport. *J. Biol. Chem.*, **268**, 15469(1993)
- Abumrad, N. A., Elmmaghrabi, M. R., Amri, E., Lopez, E. and Grimaldi, P. A. : Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. *J. Biol. Chem.*, **268**, 17665(1993)

30. Stremmel, W., Kleinert, H., Fitscher, B. A., Gunawan, J., Klaassen-Schlüter, C., Möller, K. and Wegener, M. : Mechanism of cellular fatty acid uptake. *Biochem. Soc. Trans.*, **20**, 814 (1992)
31. Kleinfeld, A. M. : Fatty acid transfer across membranes. In "stability and permeability of lipid bilayers" Simon, S.(ed.), CRC Press(1994)
32. Abumrad, N. A., Perkins, R. C., Park, J. H. and Park, C. R. : Mechanism of long chain fatty acid permeation in the isolated adipocyte. *J. Biol. Chem.*, **256**, 9183(1981)
33. McLean, L. R. and Phillips, M. C. : Cholesterol transfer from small and large unilamellar vesicles. *Biochim. Biophys. Acta*, **776**, 21(1984)
34. Waggoner, A. S. and Stryer, L. : Fluorescent probes of biological membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **67**, 579(1970)

(1997년 3월 13일 접수)

■ 바로잡습니다.

26권 3호(1996년 6월호) p.534 논문제목 'Quaternary Alkyl Alkanolammonium기를 가지는 다공성 지지체에 Fructosyltransferase의 고정화'의 저자 '정미선, 이선희'의 소속을 (전) '전북대학교 응용생물공학부'에서 (후) '전북대학교 식품공학부'로 수정합니다.