

Lipoksigenaz Enziminin Sığır Karaciğerinden Kısmi Saflaştırılması, Karakterizasyonu, Salisilik Asitin ve Bazı Flavonların Enzim Üzerine Etkileri

Arzu ÖZTÜRK KESEBİR¹, Deryanur KILIÇ¹, Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU^{1*}

ÖZET: Lipoksigenaz (EC 1.13.11.34.; LOX) enzimleri; iki ya da daha fazla doymamış bağ bulunduran yağ asitlerine oksijen katarak oksitleyen, yapısında hem grubu olmayan demir taşıyıcı dioksigenazlardır. Gelişmiş bitkilerde, memelilerde, ökoryatik alglerde, funguslarda, bazı bakterilerde de tanımlanmıştır. Hayvan dokularında, LOX 5, LOX 8, LOX 12 ve LOX 15 izoenzimlerinin bulunduğu doğrulanmıştır. Bu çalışmada, sığır karaciğerinden LOX enzimi % 30-50 doyumluk aralığında amonyum sülfat çöktürmesiyle kısmi saflaştırıldı. Karakterizasyon çalışmaları yapılarak, optimum iyonik şiddet değeri 0.5 mM, optimum pH değeri 4.0 ve optimum sıcaklık değeri 30 °C olarak belirlendi. LOX enzimi aktivitesi üzerinde salisilik asit, eupatorin, eupatilin ve gardenin A maddelerinin inhibisyon etkisini araştırmak üzere 5 farklı inhibitör konsantrasyonunda aktivite ölçümü yapılarak % Aktivite –[I] grafikleri çizildi, IC₅₀ değerleri bulundu. Salisilik asit için 1.43 µM, eupatorin için 0.46 µM, eupatilin için 0.15 µM ve gardenin A için 5.31 µM olarak belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Lipoksigenaz, kısmi saflaştırma, karakterizasyon, inhibisyon.

Partial Purification and Characterization of Lipoxygenase Enzyme From Bovine Liver, Effects of Salicylic Acid and Some Flavons on the Enzyme

ABSTRACT: Lipoxygenase (EC 1.13.11.34; LOX) is a non-hem iron-bearing dioxygenase which converts oxygen into fatty acids containing two or more unsaturated bonds and converts them into fatty acid hydroperoxides. Lipoxygenase activity is described in developed plants, in mammals, in echolalia, in fungi, in bacteria. LOX 5, LOX 8, LOX 12 and LOX 15, the four-headed isoenzymes of LOX enzymes are commonly found in animal tissues. In this study, LOX enzyme from bovine liver was partially purified by precipitation of ammonium sulphate at 30-50% saturation. Characterization studies were carried out and the optimum ionic strength value was determined as 0.5 mM, optimum pH value was pH 4.0 and optimum temperature value was 30 °C. The inhibitory effect of salicylic acid, eupatorin, eupatilin and gardenin A on LOX enzyme was investigated. Inhibitory effect of salicylic acid, eupatorin, eupatilin and gardenin A on LOX enzyme was investigated. IC₅₀ values were calculated as 1.43 µM for salicylic acid, 0.46 µM for eupatorin, 0.15 µM for eupatilin and 5.31 µM for gardenin A.

Key words: Lipoxygenase, partial purification, characterization, inhibition.

¹ Arzu ÖZTÜRK KESEBİR (Orcid ID: 0000-0003-2603-7509), Deryanur KILIÇ (Orcid ID: 0000-0002-9115-136X), Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU (Orcid ID: 0000-0002-1877-3154), Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Erzurum, Türkiye

*Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ömer İrfan KÜFREVİOĞLU, e-mail: okufrevi@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Lipoksigenaz enzimleri (LOX; EC 1.13.11.34) bünyelerinde sülfür ve hem grubu içermeyen fakat demir içeren dioksigenaz enzimleridir. (Brash, 1999) Yağ asitlerinin bünyesindeki doymamış bağlara oksijen katarak hidroperoksit yapısı oluştururlar. (Sarı, 2006) Bitkilerde, hayvanlarda ve funguslarda bulunurlar. (Sacan ve Turhan, 2014).

Bütün LOX enzimlerinin katalizlediği ortak reaksiyon cis, cis-1,4 pentadien yapısının oksitlenmesidir. Oluşan ürün cis ve trans çift bağı içerir ve bu çift bağ 234 nm dalga boyunda absorpsiyon vermektedir. Aktivite ölçümünde bu özellik kullanılmaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda oksijen elektrodu kullanıldığı da görülmektedir. (Sarı, 2006)

Memelilerde bulunan LOX enzimi substratı genellikle araşidonik asit, bitkiler için linoleik asittir (Aparoy ve ark., 2008). Araşidonik asit metabolizma yolu prostaglandinler, tromboksanlar, lökotrienler, lipoksinler gibi güçlü biyolojik düzenleyicilerin üretildiği yoldur. (Parker, 1987; Samuelsson ve ark., 1987; Funk, 1996) Bu metabolik yol, memelilerde bulunan LOX enzimleri tarafından katalizlenir. Araşidonik asit metabolizmasının LOX ile gerçekleştirilen yolunda reaktif oksijen türleri (ROS) denilen maddeler oluşmaktadır. Bu şekilde oluşan diğer araşidonik asit metabolitleri ve ROS maddeleri, tümör oluşumuna ya da iltihaplanmaya sebep olabilmektedir. (Juntachote ve Berghofer, 2005)

LOX enzimleri iltihaba sebep olan hastalıklar, kardiyovasküler, metabolik rahatsızlıklar ve Alzheimer gibi sinir hasarlarına bağlı hastalıklarla alakalı olduğu düşünülmektedir. (Iversen ve Kragbella, 2000; Khanna ve ark., 2003; Dobrian ve ark., 2006; Moreno, 2009; Dobrian ve ark., 2011) Ayrıca insan akciğer, meme, prostat ve kolon kanseri ile de ilişkilerinin olduğu düşünülmektedir. (Samuelsson ve ark., 1987) İnsan sağlığı ile bu

kadar ilişkili olan LOX enzimlerinin inhibitörleri ve bu inhibitörlerin keşfi oldukça önemlidir (Kelavkar, 2014).

Birçok LOX enzimi inhibitörü mevcuttur ve ticari olarak hazırlanıp eczanelerde satılmaktadır. (Misra ve ark., 2013) Fakat yan etkileri sebebiyle bu inhibitörlerin kullanımı ya yasaklanmış ya da sınırlandırılmıştır (Charlier ve Michaux, 2003).

LOX enzimi birçok bitki ve gıda yapısında da bulunmaktadır. Bitkide aroma verici olarak aldehit yapıda uçucu bileşiklerin bulunması; LOX enzimi aktivitesi sonucu yağ asidi, vitamin ve minerallerin parçalanmasına, tat ve koku bozukluğuna neden olabilmektedir. Gıda sanayinde bu durum ürünün raf ömrünü de kısaltmaktadır. (Min ve ark., 2003) Bu nedenle LOX enzimi aktivitesinin ortadan kaldırılması oldukça önemlidir. Domates suyu ile yapılan bir çalışmada LOX enziminin 40 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda aktivite kaybetmediği; 50°C civarında yaklaşık 10 dakika ısıtma ile enzimin aktivite kaybetmeye başladığı ve 60°C'nin üzerinde ise aktivitenin geri dönüşümsüz yok olduğu görülmüştür. (Rodrigo ve ark., 2007) Bu da LOX enziminin sağlık sektöründe olduğu gibi gıda sektöründe de oldukça önemli bir enzim olduğunu ve karakterizasyonu ile inhibisyonunun araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Bu çalışmada sığır karaciğerinden kısmi saflaştırma yolu ile elde edilen LOX enziminin karakterizasyonu ve bazı maddelerin enzim aktivitesi üzerindeki inhibe edici etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Sığır Karaciğer Dokusu ve Kimyasalların Temini

Çalışmada kullanılan sığır karaciğer dokusu Erzurum'da yerel kasaplardan, kimyasallar ise Merck, Sigma-Aldrich firmalarından temin edilmiştir.

Homojenat Hazırlama

Sığır karaciğer dokusu önce çok küçük parçalar halinde kesildi, daha sonra sıvı azot ile hücre parçalaması gerçekleştirildi. Un haline gelinceye kadar sıvı azot ile muamele etmeye devam edildi. Parçalanmış dokular 50 mM Tris-HCl (pH 7,5) tamponuna alındı, 30 dakika kadar manyetik karıştırıcıda 4°C'de karıştırıldıktan sonra 13 000 xg 4°C'de 60 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alınarak kısmi saflaştırma işlemine geçildi.

Amonyum Sülfat Çöktürmesi

Çalışmada % 0-20, %20-30, %30-40, %40-50, %50-60 amonyum sülfat doygunluk aralığında LOX enzimi arandı ve %30-50 aralığında çöktüğü tespit edildi (Jaenicke,1984).

LOX Enzimi Aktivite Ölçümü

Aktivite ölçümünde substrat olarak kullanılan linoleik asidin pH 6.5 olan fosfat tamponu içinde 234 nm dalga boyunda verdiği absorpsiyon değişimi kullanılmıştır. Bu işlem için önce substrat çözeltisi, 5 mL metil alkol içinde 0.04 mM linoleik asit çözülerek hazırlandı. 3 mL 5 mM pH 6.5 fosfat tamponu, 90 µL substrat çözeltisine eklenerek 20°C sıcaklıkta 5 dakika inkübe edildi. Bu çözelti içerisine 30 µL enzim eklenerek 3 dakika boyunca absorpsiyon değişimi gözlemlendi (Sarı, 2006) Enzim ünitesi, optimal şartlarda 1 dakikada 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlandı.

Optimum İyonik Şiddet

Sığır karaciğer dokusundan kısmi saflaştırılan LOX enziminin optimum iyonik şiddet değerini bulmak amacıyla 0.25 mM ile 25 mM aralığında pH 6.5 olan fosfat tamponu ile aktivite ölçümü gerçekleştirildi ve optimum iyonik şiddet değeri 0.5 mM olarak tespit edildi.

Optimum pH

Optimum pH çalışması için 0.5 mM pH'sı 4.0-5.0 aralığında asetat, 5.0-8.0 aralığında K-

fosfat, ve 8.0-9.0 arasında Tris-HCl tamponları kullanılarak aktivite ölçümü gerçekleştirildi ve optimum pH değeri 4.0 olarak tespit edildi.

Optimum sıcaklık

Optimum sıcaklık çalışması için 0.5 mM pH 4.0 asetat tamponu kullanılarak 0°C ile 40°C aralığında ölçümler gerçekleştirildi ve optimum sıcaklık değeri 30°C olarak tespit edildi.

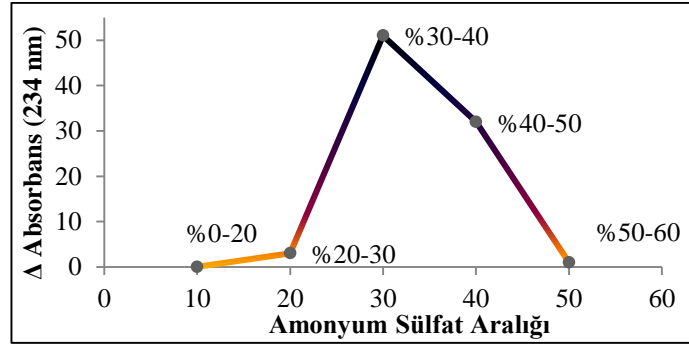
İnhibisyon Çalışmaları

Sığır karaciğerinden kısmi saflaştırma yöntemi ile elde ettiğimiz LOX enziminin aktivitesi üzerine bazı maddelerin inhibisyon etkisini araştırıldı. Bu amaçla salisilik asit, eupatilin, eupatorin ve gardenin A bileşiklerinin farklı konsantrasyondaki çözeltileri hazırlanıp küvet ortamına eklendi ve aktivite ölçümleri değerlendirildi ve % Aktivite-[Bileşik] grafikleri çizildi. Bu grafikler Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8'de gösterilmiştir. İnhibisyon etkisi gösteren maddeler için grafiklerden IC₅₀ değerleri hesaplandı.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Sığır karaciğer dokusundan amonyum sülfat çöktürmesi yolu ile kısmi saflaştırılması gerçekleştirilen LOX enziminin karakterizasyon çalışmalarında; optimum iyonik şiddet, optimum pH ve optimum sıcaklık değerleri araştırılmıştır.

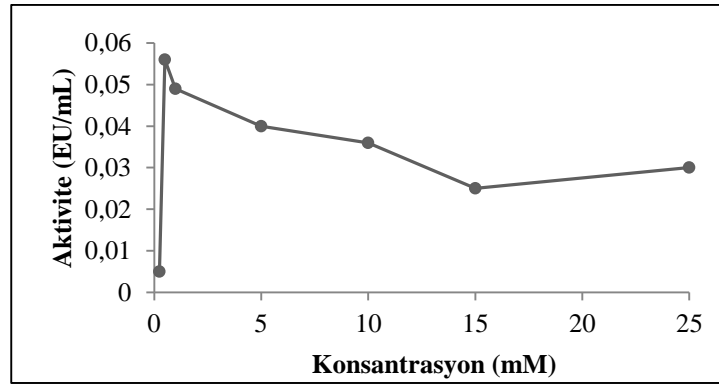
Sığır karaciğeri sıvı azotla homojenize edildikten sonra amonyum sülfatla çöktürme işlemi yapılmış, elde edilen sonuç ile ilgili grafik Şekil 1'de verilmiştir. Buna göre enzimin bulunduğu amonyum sülfat aralığı %30-50 olarak bulunmuştur. Kuo ve arkadaşlarının muz yaprağı ile yaptıkları çalışmada, LOX enzimi amonyum sülfat çöktürmesi yöntemi ile saflaştırılmış ve %25-50 aralığında çöktüğü tespit edilmiştir.(Kuo ve ark., 2006) Yaptığımız çalışma ile paralel sonuç buldukları görülmektedir.



Şekil 1. Lipoksigenaz enziminin amonyum sülfat çöktürmesi sonucu

Enzimi optimum iyonik şiddet değerini bulmak amacıyla 0.25 mM ile 25 mM aralığında pH 6.5 olan fosfat tamponu ile aktivite ölçümü gerçekleştirildi ve optimum iyonik şiddet değeri

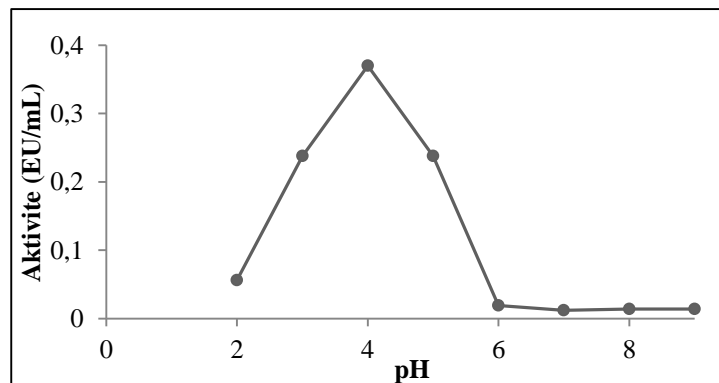
0.5 mM olarak tespit edildi (Şekil 2). Buna göre LOX enzimi 0.5 mM gibi düşük konsantrasyonlarda çok daha etkili çalışmaktadır.



Şekil 2. Sığır karaciğer dokusundan saflaştırılan LOX enzimi için optimum iyonik şiddet grafiği

Enzimin optimum pH değeri ölçümü ile ilgili sonuçlar Şekil 3'te verilmiş, bu değer pH 4.0 olarak belirlenmiştir. Kuo ve arkadaşları optimum pH değerini 6.2 ; Perez ve arkadaşları çöl trüf mantarı ile yaptıkları saflaştırma çalışmasında pH 7 ve Lu ve arkadaşlarının çalışmasında pH 7.5 olarak belirlendiği görülmüştür (Pérez-Gilabert ve ark., 2005; Kuo

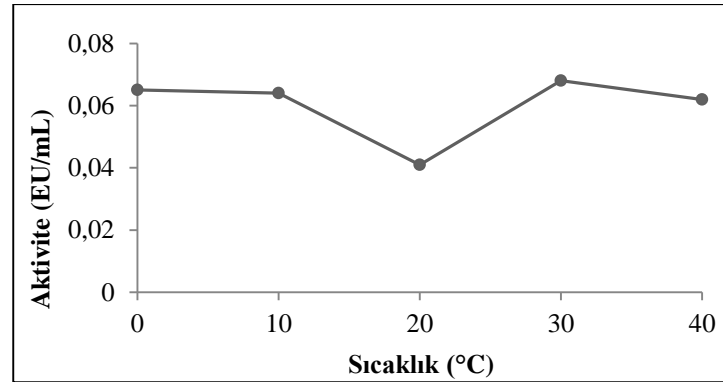
ve ark., 2006; Lu ve ark., 2013) Bu sonuçlar sığır karaciğer dokusundan elde edilen LOX enziminin optimum pH değerinin muz yaprağı, trüf mantarı ve rekombinant üretim ile elde edilen LOX enzimlerinde olduğu gibi bazik değil, asidik ortamda daha iyi çalıştığını göstermektedir.



Şekil 3. Sığır karaciğer dokusundan saflaştırılan LOX enzimi için optimum pH grafiği

Enzimin optimum sıcaklık değeri ölçümü ile ilgili sonuçlar Şekil 4'te verilmiştir. optimum sıcaklık değeri ise 30 °C olarak tespit edilmiştir. Kuo ve arkadaşlarının çalışmalarında optimum sıcaklık değeri 40 °C, Lu ve arkadaşlarının elde ettikleri rekombinant LOX enzimi ile yaptıkları çalışmalarında ise optimum sıcaklık değeri 25°C

olarak belirlenmiştir. (Kuo ve ark., 2006; Lu ve ark., 2013) Bu da rekombinant üretimde optimum sıcaklık değerinde değişikliğe sebep olabileceğini, öte yandan Kuo ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile paralel bir sonuç elde ettiğimizi göstermektedir.

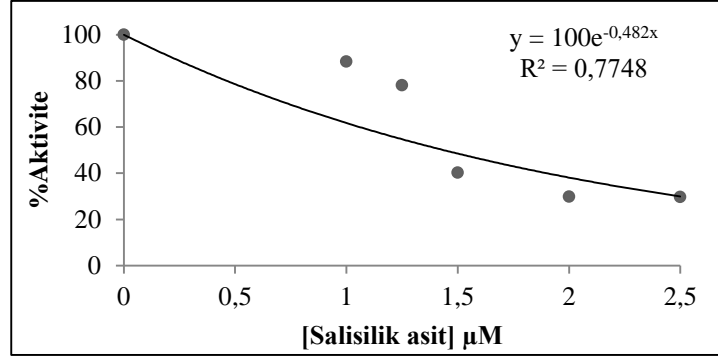


Şekil 4. Sığır karaciğer dokusundan saflaştırılan LOX enzimi için optimum sıcaklık grafiği

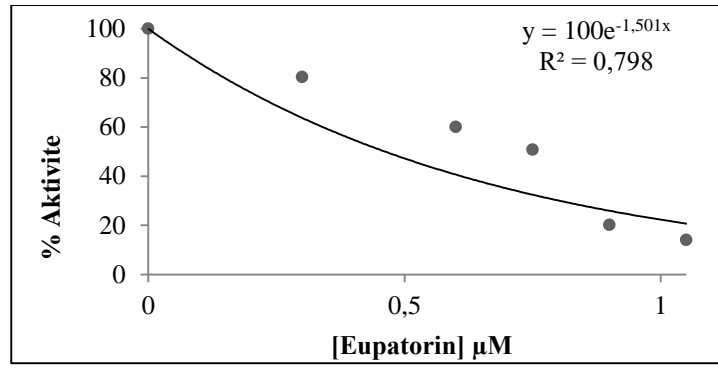
LOX enzimi inhibisyon çalışmaları için salisilik asit, eupatorin, eupatilin, gardenin A maddeleri kullanılmıştır. LOX enzimi ile ilgili yapılan çalışmalar kontrol edildiği zaman genellikle doğal ürünlerin inhibisyonunun incelendiği görülmektedir. Kanser ile ilgisini açıkladığımız LOX enziminin aktivitesini azaltıcı ya da durdurucu gıdalar araştırılmaktadır. Örneğin Khan ve arkadaşları *Polygonatum verticillatum* (Mührüsüleyman) bitki özütü ile yaptığı çalışmada sulu fraksiyonlar ile hazırladığı özüt için IC₅₀ değerini 109 ug.mL⁻¹; etil asetat ile hazırladığı özüt için IC₅₀ değeri 97 ug.mL⁻¹ olarak bulmuştur. (Khan ve ark., 2015) Yashanswinj ve arkadaşları ise susam türevlerinin LOX enziminin inhibisyonunda etkili olduğunu düşünmüş ve sesamol için IC₅₀ değerini 51.84

µM olarak bulmuştur. (Yashaswini ve ark., 2017)

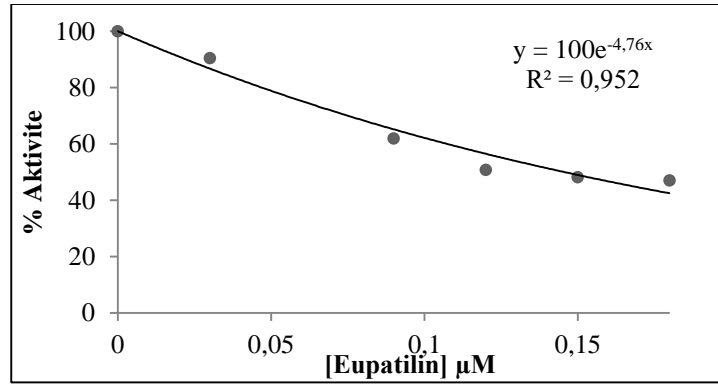
Bu çalışmada doğal maddeler olan kedi bıyığı otu, java çayı ve hint böbrek çayında bulunan eupatorin, pelin yaprağında bulunan eupatilin ve gardenin A maddelerini ve salisilik asidi seçildi. Çizilen % Aktivite- [I] grafikleri Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8'de gösterilmiştir. İnhibisyon etkisi gösteren maddeler için IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Bu değer enzim aktivitesini yarıya indiren inhibitör miktarını gösterir. Elde edilen değerler kontrol edildiği zaman IC₅₀ değeri en düşük olan eupatilin maddesidir, bu sonuç inhibisyon etkisinin kullandığımız diğer maddelere kıyasla daha yüksek olduğunu gösterir. Yine IC₅₀ değerleri kontrol edildiğinde en düşük inhibe edici etkiyi gösteren maddenin gardenin A olduğu görülmektedir.



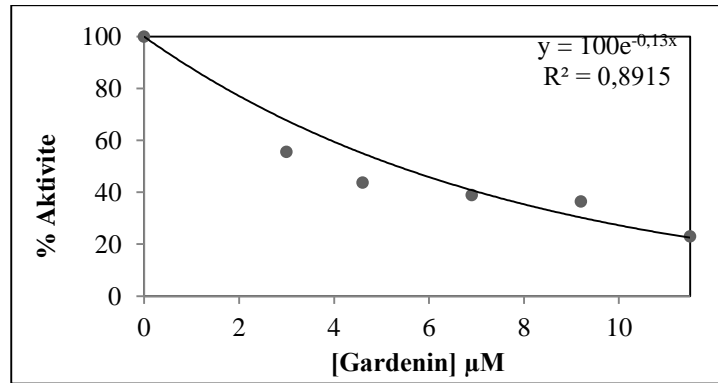
Şekil 5. LOX enziminin salisilik asit için %Aktivite- [I] grafiği



Şekil 6. LOX enziminin eupatorin için %Aktivite- [I] grafiği



Şekil 7. LOX Enzimi'nin eupatilin için %Aktivite- [I] grafiği



Şekil 8. LOX enziminin gardenin A için %Aktivite- [I] grafiği

SONUÇ

Yapılan çalışmaların toplu sonuçları Çizelge 1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1. LOX enzimi karakterizasyon ve inhibisyon çalışma sonuçları

ÇALIŞMA TİPİ/İNİHİBİTÖRLER	SONUÇ
Optimum iyonik şiddet	0.50 mM
Optimum pH	4.0 (asetat)
Optimum sıcaklık	30°C
Salisilik asit	IC ₅₀ =1.43 mM
Eupatorin	IC ₅₀ =0.46 mM
Eupatilin	IC ₅₀ =0.145 mM
Gardenin A	IC ₅₀ =5.31mM

LOX enzimi hayvan/insan sağlığı ve gıda sanayisi için oldukça önemli bir enzimdir. Bu nedenle gösterdiği karakteristik özelliklerin ve inhibe edici maddelerin bilinmesi hem sağlık alanında hem de sanayi alanında büyüme ve karlılığa neden olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi’nin 2015/357 numaralı Temel Araştırma Projesi kapsamında verdikleri desteklerden dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Aparoy P, Reddy RNL, Gurupsarad MR, Reddy P, Reddanna, 2008. Homology modeling of 5-lipoxygenase and hints for better inhibitor design. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22: 611–619.

Brash AR, 2015. Catalysis, and acquisition of substrate lipoxygenases: occurrence, functions. *Journal of Biological Chemistry*, 274: 23679-23682.

Charlier C, Michaux C, 2003. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX- 2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38: 645-659.

Dobrian AD, Lieb DC, Cole BK, Taylor-Fishwick DA, 2011. Functional and pathological roles of the 12- and 15-lipoxygenases. *Progress in Lipid Research.*, 50: 115-131.

Funk CD, 1996. The molecular biology of mammalian lipoxygenases and the quest for eicosanoid functions using lipoxygenase-deficient mice. *Biochimica et Biophysica Acta.*,1304: 65-84.

Iversen L, Kragbella K, 2000. Arachidonic acid metabolism in skin health and disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 63: 25-42.

Jaenicke, L, 1984 Einführung in die Praxis des Biochemikers, Institut für Biochemie, Universität zu Köln, Druck: Photostelle der Universitäts- und Stadtbibliothek Köln, 268-272

- Juntachote T, Berghofer E, 2005. Antioxidant properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal. *Food Chemistry*, 92: 193-202.
- Kelavkar UP, Cohen C, Kamitani H, Eling TE, Badr KF, 2000. Concordant induction of 15-lipoxygenase-1 and mutant p53 expression in human prostate adenocarcinoma: correlation with Gleason staging. *Carcinogenesis*, 21:1777-1787.
- Khan H, Saeed M, Muhammad N, Gaffar R, Gul F, Raziq N, 2015. Lipoxygenase and urease inhibition of the aerial parts of the *Polygonatum verticillatum*. *Toxicol Ind Health*, (8):758-63.
- Khanna S, Roy S, Ryu H, Bahadduri P, Swaan PW, Ratan RR, Chandan K, Sen CK, 2003. Molecular basis of vitamin E action. *Journal of Biological Chemistry*, 278: 43508-43515.
- Kuo JM, Hwang A, Yeh DB, Pan MH, Tsai ML, Pan BS, 2006. Lipoxygenase from banana leaf: purification and characterization of an enzyme that catalyzes linoleic acid oxygenation at the 9-position. *J Agric Food Chem.*, 54(8):3151-6.
- Lu X, Zhang J, Liu S, Zhang D, Xu Z, Wu J, Li J, Du G, Chen J, 2013. Overproduction, purification, and characterization of extracellular lipoxygenase of *Pseudomonas aeruginosa* in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol.*;97(13):5793-800.
- Min, S, Min SK, Zhang QH, 2003. Inactivation Kinetics of Tomato Juice Lipoxygenase by Pulsed Electric Fields. *Journal of Food Science*, 68(6): 1995-2001.
- Misra S, Ghatak S, Patil N, Dandawate P, Ambike V, Adsule S, Unni D, Swamy KV, Padhye S, 2013. Novel dual cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors targeting hyaluronan-CD44v6 pathway and inducing cytotoxicity in colon cancer cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21: 2551-2559.
- Moreno JJ, 2009. New aspects of the role of hydroxyeicosatetraenoic acids in cell growth and cancer development. *Biochemical Pharmacology*. 2009; 77: 1-10.
- Parker CW, 1987. Lipid mediators produced through the lipoxygenase pathway. *Annual Review of Immunology*, 5: 65-84.
- Pérez-Gilbert M, Sánchez-Felipe I, García-Carmona F, 2005. Purification and partial characterization of lipoxygenase from desert truffle (*Terfezia claveryi* Chatin) ascocarps. *J Agric Food Chem.*, 53(9):3666-71.
- Poekel, D, Funk CD, 2010. The 5-lipoxygenase/leukotriene pathway in preclinical models of cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.*, 86, 243-253.
- Rodrigo D, Jolie R, Van Loey A, Hendrickx M, 2007. Thermal and high pressure stability of tomato lipoxygenase and hydroperoxide lyase. *Journal of Food Engineering*, 79: 423-429.
- Sacan O, Turhan Y. E, 2014. Lipoxygenase Inhibitory Activities of Some Plant Extracts and Chemical Compounds. *IUFS Journal of Biology*, 73(2): 47-52
- Samuelsson B, Dahlén SE, Lindgren JA, Rouzer CA, Serhan CN, 1987. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis, and biological effects. *Science*, 237: 1171-1176.
- Sarı O, 2006. Bezelye (*Pisum Sativum*)’den Lipoksijenaz Enziminin Saflaştırılması Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Yashaswini PS, Rao AG, Singh SA, 2017. Inhibition of lipoxygenase by sesamol corroborates its potential anti-inflammatory activity. *Int J Biol Macromol.*, 94(Pt B):781-787.
- Yamamoto S, Suzuki H, Veda N, 1997. Arachidonate 12-lipoxygenases. *Progress in Lipid Research*, 36: 23-41.