

脂質ラフトは存在するか？

小林 俊 秀

「脂質ラフト」という言葉が登場してからすでに10年以上の年月が経過している。しかし未だに脂質ラフトの大きさ、組成、寿命、さらには存在さえも正確に定義することはできていない。脂質ラフトは存在するのだろうか？ 脂質ラフトに関する文献は膨大な数に上り、それを整理し理解することは著者の能力を超えている。したがってこの小文では著者がラフトをどう捉えているかを述べたい。著者の理解では論文の数と同じくらい「ラフト観」が存在しており、ここでは著者のラフト観について書かせていただくことをお許し願いたい。なお、脂質ラフトに関しては優れたレビューがあるので参照されたい¹⁻⁵⁾。

1. 脂質ラフトとは何か

2006年の脂質ラフトと細胞機能に関するKeystone symposiumでは、ラフトは「直径10–200 nmの不均一で非常にダイナミックなステロールとスフィンゴ脂質に富んだ膜ドメイン」と定義されている⁶⁾（この報告ではラフトは「膜ラフト」として定義されているが本稿ではラフトの脂質成分に注目するという意味で「脂質ラフト」という言葉を使う）。したがって「脂質ラフトは存在するか」という問いには、このようなドメインが存在するかどうかを検証するというかたちで答えることになる。しかし、多くの生物学者にとってより大事なことは、“機能ドメイン”としての脂質ラフトであろう。脂質ラフトがここまで注目されたのは、脂質ラフトを想定することで、情報伝達や膜輸送などの多くの生命現象が説明できると考えられることが大きな理由になっている。このような機能から見た脂質ラフトの定義は「特定の物性を持った膜上のドメイン」であり、このようなドメインがその物性に基づいて特定のタンパク質を集合させ、機能発現のための場を提供するというものである。この特定の場がステロールとスフィンゴ脂質に富んだ膜ドメインであり、特定の物性とは「秩序液体 (liquid order)」と言われているものであるというのが大方の脂質

ラフトの捉え方である^{7,8)}。liquidは無秩序 (disorder) なものであるというのが常識で、liquid orderという特殊な言葉は筆者の知る限りステロールを含む脂質膜を表すとき以外は使われない。このような膜では脂質の炭化水素鎖の動きは制限されている (orderである) が、膜における脂質自体の側方拡散は速い (liquidである)。したがって物質から見ると脂質ラフトはステロールとスフィンゴ脂質に富んだドメインであるが、物性から見ると無秩序液体 (liquid disorder) の膜中に存在する秩序液体相のドメインということになる^{脚注1)}。

しかし秩序液体相の形成には必ずしもスフィンゴ脂質を必要とはしない。図1(2)はスフィンゴ脂質の構造を示したもののだが、スフィンゴ脂質の特徴は比較的長鎖の飽和炭化水素鎖を持つことにあり、その結果これらの脂質を単独で水に分散させたとき生理的温度ではゲル (固体) 状態にあるものが多い。このような脂質にコレステロールを添加すると秩序液体相が形成される。スフィンゴ脂質のもうひとつの特徴であるスフィンゴシン塩基の重要性も指摘されているが、ゲル状態のリン脂質、例えばホスファチジルコリンにコレステロールを添加しても秩序液体相は形成される。それどころか、秩序液体相の形成はコレステロールの

独立行政法人・理化学研究所・小林脂質生物学研究室
(〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1)

Revisiting lipid rafts

Toshihide Kobayashi (Lipid Biology Laboratory, RIKEN,
2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan)

脚注1：無秩序液体と秩序液体の違いは脂質二重層における個々の脂質の運動性の違いと解釈できる。例えば脂質の炭化水素鎖の運動は無秩序液体相においてはるかに活発である。一方、膜を横切る脂質の運動 (フリップフロップ) は無秩序液体相においても制限されており、この点は液体と異なっている。無秩序液体相は液晶相とも呼ばれる。

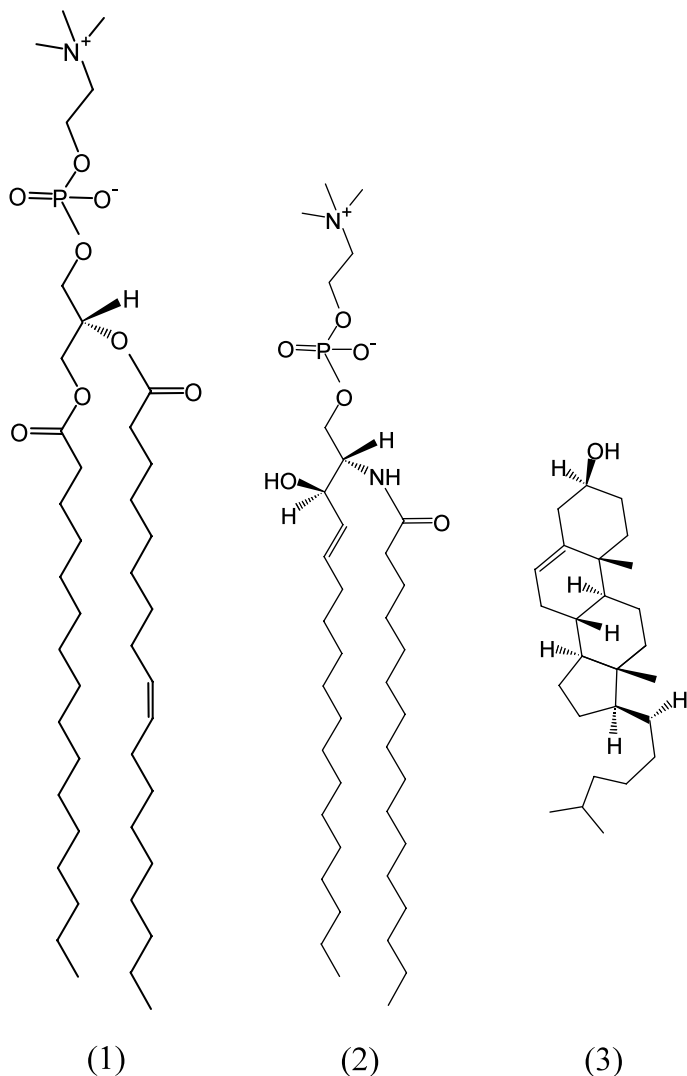


図1 脂質の構造

形質膜の主要な脂質はグリセロリン脂質（ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミンなど）、スフィンゴ脂質（スフィンゴミエリン、スフィンゴ糖脂質）、コレステロールである。グリセロリン脂質はグリセロール骨格を持つものに対してスフィンゴ脂質はスフィンゴシン塩基を含んでいる。グリセロリン脂質は単にリン脂質と呼ばれることもあるが、スフィンゴミエリンはスフィンゴ脂質でありながらリンを持っているので、スフィンゴミエリンもまたリン脂質である。グリセロリン脂質が細胞内のすべてのオルガネラに分布しているのに対してスフィンゴ脂質は形質膜に濃縮されている。コレステロールも小胞体、ゴルジ体、形質膜の順で濃度が増し、形質膜では30-40%を占める。図はパルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（C16:0/C18:1 PC）(1)、パルミトイルスフィンゴミエリン（C16:0 SM）(2)およびコレステロール(3)の構造を示す。C16:0/C18:1 PCは37°C付近では液晶状態（液体状態、無秩序液体）を示すが、C16:0 SMはゲル（固体）である。二つの脂質の混合膜はゲル相と液晶相とに相分離する。

膜濃度に一義的に依存しているもので、基本的にはどのようなリン脂質であっても高濃度のコレステロールが存在すると秩序液体相は形成される。つまり想定されている脂質ラフトの機能の発現には定義されている脂質ラフトの構成

成分は必ずしも必要ないということが言える。

2. 人工膜で表わせないもの

しかし実際には直鎖の飽和炭化水素鎖だけを持つグリセロリン脂質はほとんど存在せず、形質膜を構成する脂質は飽和脂肪酸を結合しているスフィンゴ脂質、不飽和脂肪酸と飽和脂肪酸を1本ずつ持つグリセロリン脂質、およびステロールが主な成分である。なお今後本稿では動物細胞の形質膜だけを頭に置いて稿を進める。したがってステロールはコレステロールと言い換える。動物細胞ではスフィンゴ脂質のほとんどは形質膜に局在していると考えられる。またコレステロールも形質膜で最も濃度が高く、形質膜におけるコレステロールの割合は30%程度と推定されている。

さて、飽和脂肪酸を含むスフィンゴ脂質（例えばパルミトイルスフィンゴミエリン（脂肪酸炭素鎖長16））、飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸を含むリン脂質（例えばパルミトイル、オレオイルホスファチジルコリン（オレイン酸は炭素鎖長18で9番目と10番目の炭素がシスの二重結合でつながっている））、コレステロールを使って人工膜（平面二重膜や水面や基盤に張った一重膜も人工膜であるが、ここでは人工膜としてリポソームのような閉鎖した膜を念頭に置いている）を形成すると、スフィンゴ脂質に富むドメインとホスファチジルコリンに富むドメインとに相分離する。これは脂質の物性に基づく相分離である。条件にもよるが、細胞より小さな直径10 μm 程度の人工膜においてさえ、できるドメインの大きさが数 μm に達することがしばしば観察される（図2）。細胞では、いくつかの例外的な場合を除いてこのような大きなドメインが観察されることはない。これについては最近、膜タンパク質の存在がドメインの大きさを制限していることを示唆するシミュレーション結果が報告されている⁹⁾。このことは、タンパク質を含まない人工膜の実験から、そのまま細胞膜の脂質分布を類推することはできないことを示唆している。

細胞膜と人工膜とのもうひとつの決定的な違いは膜の非対称性である。形質膜ではスフィンゴ脂質は外層に局在していると考えられている。しかし、人工膜ではスフィンゴ脂質を外層だけに局在させることはできない（平面膜では可能である¹⁰⁾）。非対称な人工膜の解析はほとんど行われていないので、非対称性がラフトを知る上でどれだけ重要なかはわからない。しかしスフィンゴ脂質が外層に多いことを考えると「コレステロールとスフィンゴ脂質が形成するドメイン」というのは基本的には膜の外層（あるいはオルガネラのルーメン側）のみで形成される構造である。このように形成されたドメインがどのようにして細胞内にシグナルを伝えるのかは、対称な膜では検証できない事象である。

3. 界面活性剤不溶性ということ

ここで界面活性剤不溶性ということについて考察したい。スフィンゴ脂質は Triton X-100 のような非イオン性界面活性剤に溶けにくい。このことから界面活性剤不溶性の画分に脂質ラフトの構成分子が濃縮されるというアイデアが生まれた^{11,12)}。この手法はしかし、界面活性剤が膜の再編成を行うため、ドメインが界面活性剤を加える前から存在していたのか、界面活性剤によって形成されたのか、区別がつかないという致命的な問題点を持っている^{13,14)}。しかし実際に、特定のタンパク質が条件に応じて界面活性剤に溶けたり溶けなかったりするということが起こる。このことはタンパク質の分布が変わったということでは必ずしも説明はできないが、少なくともタンパク質の性質か、分布か、脂質の性質か、分布か、何かが変わったということを示している。界面活性剤処理による分画は脂質ラフトにアプローチするほとんど唯一の生化学的な手法であり、カベオリンをはじめとする新しいタンパク質^{15,16)}、新しい脂質¹⁷⁾がこの方法で見つかったことを考えると、方法の限界を理解しつつこの方法を上手に利用することは、現在でも有効な手段であると考えられる。

4. 脂質を見ることでわかってきたこと

どのくらいの脂質分子が集まったときに脂質ドメインと言うかということに関しては定義がない。脂質二重層上で脂質一分子が占める表面積は $50\text{--}60\text{Å}^2$ であり、単純に計算すると 100 nm 四方の脂質二重層には $40,000$ 分子の脂質が存在する。一番小さい人工膜(リボソーム)は直径 25 nm 程度であり、ここに存在する脂質の数は $6,500$ 分子程度である。本稿では脂質の物性を担保する数としてほしい $6,500$ 分子、脂質平面膜の面積にして 40 nm 四方程度を脂質ラフトの最小の機能単位として議論を進めていく。

さて「脂質ラフトは存在するか?」という問いに答えるには、結局のところ形質膜の脂質そのものを見るしかない。そのためには脂質を直接見ることができることが最も理想的である。こういう試みは現在さかんに行われているが、今のところ脂質ラフトを機能の最小単位のスケールで見るとは間接的な手法を取らざるを得ない。つまり特定の脂質を認識する脂質プローブの利用ということになる。この方法によってのみ詳細な特定の脂質の細胞内分布を調べることが可能になるが、この方法には以下のようないくつかの問題点がある。

- 1) 特定の脂質を認識するプローブが少ない。
- 2) 加えたプローブが認識するすべての脂質に結合するわけではない。
- 3) いくつかの脂質プローブによる脂質の認識は脂質の構造と分布状態の両方に依存しているが、分布状態の検

討を行った例は少ない。

- 4) 脂質プローブの添加そのものが細胞の脂質分布や動態を変化させる可能性がある。

脂質ラフトのマーカーとしては糖脂質であるガングリオシド GM1 に結合するコレラ毒素、なかでも毒性のない B サブユニットが良く用いられ、市販もされている^{脚注 2)}。コレラ毒素が GM1 だけに結合するのか、という点には異論もある。また B サブユニットはペンタマーを形成し、ペンタマーのそれぞれのユニットが 1 分子の GM1 に結合するため、B サブユニットの結合は GM1 のクラスター化を引き起こす。ライセニン(スフィンゴミエリン)を特異的に認識するタンパク質毒素である^{18,19)}。ライセニンのスフィンゴミエリンへの結合はスフィンゴミエリンの存在状態に依存し、脂質がクラスター化しているときのみライセニンの結合が起こる²⁰⁾。一方、コレラ毒素の結合は GM1 の存在状態には依存しないようである²¹⁾。このことは、コレラ毒素と異なり、ライセニンは膜上でのスフィンゴミエリンの再分布を引き起こさないことを示唆している。コレラ毒素は 5 分子の GM1 のクラスター化を引き起こすが、これによって GM1 の膜上の分布が変化するかどうかはわかっていない。

図 3A は無毒化したライセニンとコレラ毒素 B サブユニットを用いて Jurkat 細胞の形質膜を二重標識したものである。図 3B では大きさの異なる金粒子を使って二つの脂質を見分けている。一見するとこれらの脂質がドメインを形成しているかどうかはわからないが、統計処理を行うとライセニン、コレラ毒素はそれぞれ半径 60 nm および 50 nm 程度の脂質ドメインを形成していることがわかる。一方ライセニンとコレラ毒素をともに含む脂質ドメインは存在しない。ライセニン、コレラ毒素がそれぞれスフィンゴミエリン、GM1 の膜上分布を反映していると考え、この結果はスフィンゴミエリンと GM1 がそれぞれ別々の脂質ドメインを形成していることを意味する。このような脂質ラフトの多様性は他にも報告されている。例えば名古屋大学の藤本らはマウス繊維芽細胞の SDS 処理凍結割断レプリカを免疫染色することによりガングリオシド GM1 と GM3 とがそれぞれ異なった脂質ドメインを形成していることを報告している²²⁾。この他、GM1 と GM3 が蛍光顕微鏡で観察されるような大きなドメインをそれぞれ形成することも報告されている^{23,24)}。また最近発見されたホスファチジルグルコシドはスフィンゴミエリンや GM1 とは異なった光学顕微鏡で観察される大きさのドメインを形成することも報告されている¹⁷⁾。GM1, GM3, スフィンゴミ

脚注 2 : Molecular Probes 社 (Invitrogen) から Vybrant[®] Lipid Raft Labeling Kits として蛍光標識したコレラ毒素 B サブユニットが市販されている。

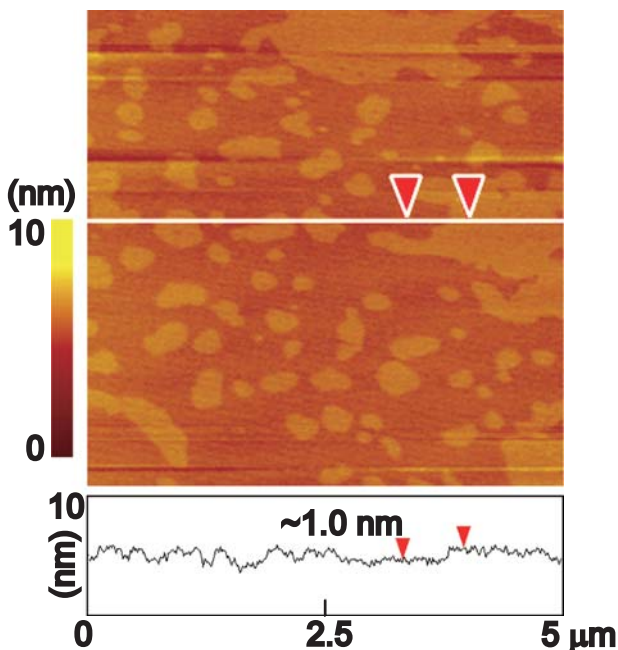


図2 人工膜上に形成される脂質ドメイン

ゲル状態のスフィンゴミエリンと液晶状態のホスファチジルコリンの混合膜にコレステロールが存在すると相分離は促進される。コレステロールとスフィンゴミエリンの混合物は秩序液体相を形成する。相分離にはスフィンゴ脂質であることが必須ではなく、ゲル状態のホスファチジルコリンと液晶状態のホスファチジルコリンを用いても同様の相分離が観察される。しかし生理的温度でゲル状態のホスファチジルコリンは通常、細胞にはわずかしかな存在しない。コレステロール濃度が非常に高い (>40%) 場合には液晶状態のホスファチジルコリンも秩序液体相を形成する。したがってスフィンゴミエリン/ホスファチジルコリン (液晶) の混合膜はコレステロールが非常に高い場合には相分離が見られなくなる。

この図は原子間力顕微鏡 (atomic force microscope, AFM) を用いて脂質ドメインを測定したものである。コレステロール含量は15%である。AFMではマイカ等の基盤上に脂質二重層あるいは一重層 (この場合は二重層) を形成させ原子間力を形成することで膜の厚さを測定する。スフィンゴ脂質 (パルミトイルスフィンゴミエリン (C16:0 SM)) に富んだ膜ドメインは不飽和結合を持つホスファチジルコリン (ジオレオイルホスファチジルコリン) (C18:1/C18:1 PC) の膜よりも厚くなるので、AFMでは高さの差として (図では色の差として示している。黄色の部位は茶色の部位よりも高さが高い) ドメインの形成を測定できる。人工膜ではドメインのサイズが大きくなるため、リソソームを蛍光顕微鏡で観察するといった方法でも脂質ドメインを観察できる。しかしこの場合は蛍光プローブの各ドメインへの分配を見るという実験になる。蛍光プローブ自体がドメイン形成に影響を与える場合もある (図提供 村瀬琴乃)。

図3 形質膜上での脂質ドメイン

Jurkat細胞を無毒化ライセニンとコレラ毒素Bサブユニットで二重標識した。二つの脂質プローブは光学顕微鏡下では分離されないが (A, バーは10 μm)、電子顕微鏡下ではライセニンとコレラ毒素は異なったドメインを形成する (B, ライセニンは5 nmの金コロイド, コレラ毒素は10 nmの金コロイドで標識, 右図では5 nm金コロイドを赤, 10 nm金コロイドを青で表示, バーは100 nm)。ライセニンがスフィンゴミエリンに結合するためにはスフィンゴミエリンが5分子程度のクラスターを作っている必要がある²⁰⁾。GM1とスフィンゴミエリンは互いに良く混ざるためスフィンゴミエリンだけのクラスターは作れなくなる。従ってGM1とスフィンゴミエリンが分子レベルで混ざってしまうとライセニンは認識できない。図3CはRipleyのK関数^{37,38)}を用いてそれぞれの脂質の分布を解析した結果を示す。赤いグラフは実験結果を示す。横軸はドメインが存在するときのドメインの半径r, 縦軸は分布の度合いを示している。粒子がランダムに分布し、ドメインを形成していない場合にはデータは青いグラフで囲まれた領域に入り、青で囲まれた領域より大きな値を示すときはドメインを形成している。左図よりライセニンは半径60 nm程度のドメインを形成し、中央図よりコレラ毒素は半径50 nm程度のドメインを形成していることがわかる。一方右図はライセニンとコレラ毒素から成るドメインは存在しないことを示している。これらの結果はライセニンに認識されるスフィンゴミエリンのドメインがある、つまりGM1を含まないスフィンゴミエリンのクラスターがあり、それが半径60 nm程度に集合していることを示している。一方ライセニンの性質を考えると、GM1に富んだドメインにはスフィンゴミエリンが存在するかどうかはわからない。

エリンいずれも脂質ラフトマーカであり、「脂質の炭化水素鎖の物性に基づく相分離」からはスフィンゴ脂質によって別々のドメインを形成することは説明できない。この結果は、例えば次のように説明できるかもしれない：

- 1) スフィンゴ脂質のドメインは炭化水素鎖の違いに基づく物性の差とは異なった原理で形成される。
- 2) スフィンゴ脂質のドメインは合成直後に形成される。合成場所が違うため混合ドメインは形成されにくい。いったん形質膜に輸送されると膜のコンパートメント化のため混合は起こりにくい。

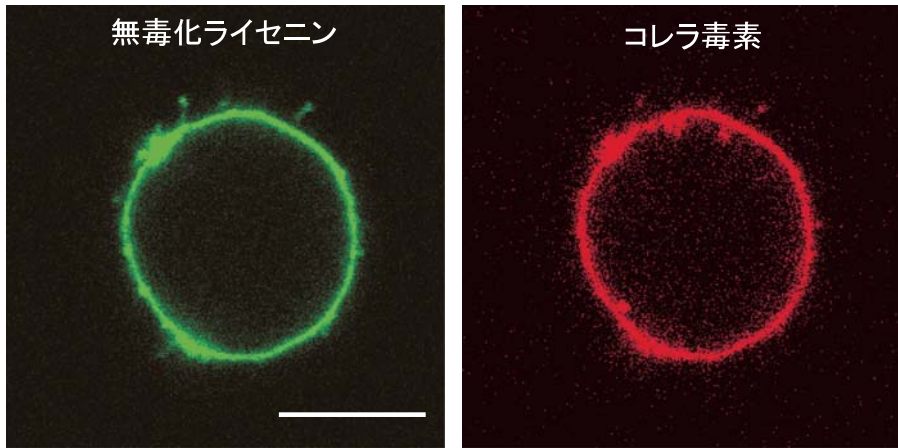
スフィンゴ糖脂質の糖鎖同士の相互作用は良く知られている。また一分子追跡を用いた楠見らの結果は細胞膜のコンパートメントは脂質ラフト1個程度の大きさであることを示唆している²⁵⁾。

5. スフィンゴ脂質・コレステロールドメインであることに必然性はあるのか

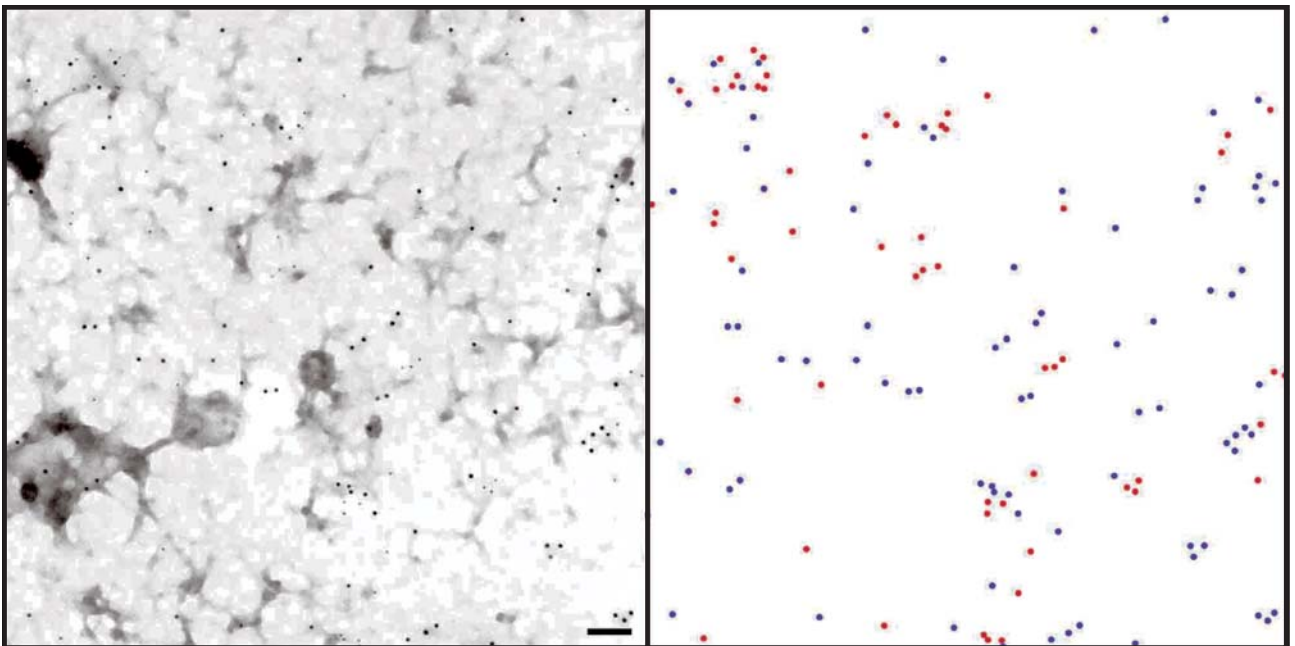
上記の結果は、形質膜上ではスフィンゴ脂質は膜ドメインを形成しているが、ドメインの形成原理は人工膜の場合とは異なっている可能性があるということを示唆している。スフィンゴ脂質が脂質ラフトの構成成分であることの必然性は、スフィンゴ脂質とコレステロールの存在によって秩序液体相の形成が可能になることにあると考えられている。しかし、上記の結果は、スフィンゴ脂質に富んだ膜ドメインが、あるいは、スフィンゴ脂質に富んだ膜ドメインだけが、秩序液体相を形成しているかどうかはわからないということも意味している。

秩序液体相の存在を決定づけるのはコレステロールである。それでは何故脂質ラフトにス

A



B



C

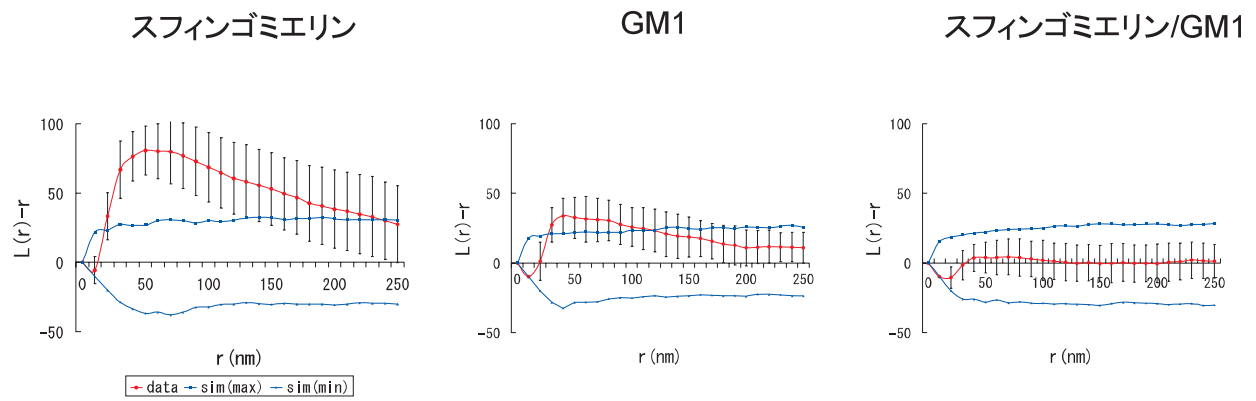


図 3

フィンゴ脂質が必要と考えなくてはならないのだろうか？これはおそらく次のような理由によるものと考えられる。

- 1) 歴史的な理由. そもそも脂質ラフトの考えはゴルジ体でのフィンゴ脂質のソーティングの結果をもとに提出された²⁶⁾. 初期のモデルではフィンゴミエリンとフィンゴ糖脂質とはゴルジ体で相分離していた. その是非はともかく, このような理由から脂質ラフトはフィンゴ脂質を中心に捉えられてきた経緯がある.
- 2) モデル膜での結果. スフィンゴミエリン, ホスファチジルコリン, コレステロールを含む人工膜系で容易に脂質ドメインの形成が観察される.
- 3) スフィンゴ脂質とコレステロールの細胞内分布の類似性. コレステロール, スフィンゴ脂質ともに細胞内膜(小胞体, ゴルジ体)で合成されるが, 形質膜に最も濃縮されている.
- 4) スフィンゴ脂質はコレステロールと親和性が高い. スフィンゴ脂質はグリセロリン脂質に比べてコレステロールと強く相互作用するという *in vitro* での結果がある. このことからフィンゴ脂質がコレステロールの細胞内分布を決めているというアイデアが生まれて来る. しかし, スフィンゴ脂質合成の低下した変異株においてもコレステロールの細胞内分布の大幅な変化は見られず²⁷⁾, 人工膜においてもコレステロールとスフィンゴ脂質の特異的な相互作用はないとする論文がある^{28, 29)}.

このように, 必ずしもフィンゴ脂質とコレステロールに富んだドメインが機能的な脂質ラフトである必然性はない. 形質膜のコレステロール濃度は30%程度であり, 不飽和結合を持つ脂肪酸を含んだホスファチジルコリンも秩序液体相を形成する40%程度のコレステロール濃度になるには, ほんのわずかのコレステロールの濃度勾配が存在すれば良い. したがって例えば形質膜上でのコレステロールの濃度勾配がフィンゴ脂質と無関係に形成されることで機能的な脂質ドメインの形成は可能である.

6. 何がわかれば良いか？

フィンゴ脂質はほとんどが形質膜の外層に局在していると考えられている. 一方コレステロールの形質膜での分布はわかっていない. スフィンゴ脂質とコレステロールのドメインの形成を考えると, 脂質二重層の外層の脂質と内層の脂質がどのように相互作用しているかは大きな問題になる. しかし有核細胞の形質膜における脂質の分布はあまりわかっていない. 脂質ラフトにおけるシグナルを考えたとき, 脂質の非対称分布の詳細な解析, 「フィンゴ脂質の裏には何があるのか」を知ることは極めて重要である. もうひとつ非常に重要なことはコレステロールの膜上での分布を知ることである. コレステロールに結合するプ

ロテリンはいくつか知られているが, 細胞膜上でコレステロールは均一に分布しているか, 濃度勾配を持っているのか, 形質膜の表裏でコレステロールはどのように分布しているのか, についてははっきりした答えは得られていない. つまり, 1) 膜の表裏での脂質分布を明らかにすること, 2) コレステロールの膜上での詳細な分布を知ること, が, 脂質ラフトを知る上での重要なキーになると考えられる.

7. 「鍵と鍵穴」である可能性

本稿では秩序液体相を機能的脂質ラフトと捉え, いかにして秩序液体相と無秩序液体相の液-液相分離が起こるかという観点から脂質ラフトの形成を議論した. このような液相間の相分離の結果, 物性に基づくタンパク質の集合が起こり, 情報伝達の効率が上昇するというのが脂質ラフトモデルである. これは鍵と鍵穴的な相互作用には依らないが, 物性の似たタンパク質を一気に集めるという方法で特異性は低いものの効率の良い情報伝達を期待する仕組みであると考えられている. しかし脂質ラフトの形成が特定の脂質を局在化させ, その結果脂質とタンパク質との鍵と鍵穴的な比較的选择性の高い相互作用が起こった結果, 情報伝達が起こっている, という可能性も否定はできない. スフィンゴリピド-シスやニーマンピック病などの細胞では細胞内にコレステロールが蓄積する^{30, 31)}. またCHO細胞では細胞密度の上昇とともにコレステロール含量が増加する³²⁾. このとき低分子量Gタンパク質, Rabに依存した小胞輸送が変化することが報告されている³³⁾. Rabタンパク質は細胞質と細胞内膜との間をシャトルすることで膜輸送を促進するが, コレステロールが過剰になると膜からの引き抜きが遅くなる^{32, 34, 35)}. Rabタンパク質の引き抜きへのコレステロールの影響は人工膜を用いても再現できる³⁶⁾. ここでは膜ドメインの物性ではなく組成そのものが重要な意味を持っている.

細胞膜のコレステロール濃度を考えると, 形質膜全体が秩序液体相をとっているという考え方もある. このモデルでは脂質の不均一な分布はないか, あるいは少なくとも生理的な意味はなく, 情報伝達はもっぱらタンパク質間相互作用によって担われると考える. 脂質の分布を詳細に見ることが可能になればこのモデルは検証できると考えられる.

8. おわりに

脂質ラフトの是非をめぐっては多くの議論がこの数年の間に行われている. ただひとつ確実に言えることは, 脂質ラフトの登場により生体膜を見る技術が格段に進んだということである. 免疫学者と物理学者が同じ会場で議論する, という光景も見られるようになった. 脂質ラフトの提唱者である Kai Simons の「大事なことは検証できる作業

仮説を提出することだ」という意味においては脂質ラフトは成功しているというのが20年前にKaiの研究室で過ごした著者の感想である。

謝辞

原稿を読んでいただいた群馬大学大学院・工学研究科高橋浩准教授、理化学研究所・小林脂質生物学研究室石塚玲子博士、早川智広博士、村瀬琴乃博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Rietveld, A. & Simons, K. (1998) *Biochim. Biophys. Acta*, **1376**, 467–479.
- 2) Edidin, M. (2003) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **32**, 257–283.
- 3) Munro, S. (2003) *Cell*, **115**, 377–388.
- 4) Mukherjee, S. & Maxfield, F.R. (2004) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **20**, 839–866.
- 5) Hancock, J.F. (2006) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **7**, 456–462.
- 6) Pike, L.J. (2006) *J. Lipid Res.*, **47**, 1597–1598.
- 7) London, E. (2005) *Biochim. Biophys. Acta*, **1746**, 203–220.
- 8) Sengupta, P., Baird, B., & Holowka, D. (2007) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **18**, 583–590.
- 9) Yethiraj, A. & Weisshaar, J.C. (2007) *Biophys. J.*, **93**, 3113–3119.
- 10) Kiessling, V., Crane, J.M., & Tamm, L.K. (2006) *Biophys. J.*, **91**, 3313–3326.
- 11) Brown, D.A. & Rose, J.K. (1992) *Cell*, **68**, 533–544.
- 12) Fiedler, K., Kobayashi, T., Kurzchalia, T.V., & Simons, K. (1993) *Biochemistry*, **32**, 6365–6373.
- 13) Heerklotz, H. (2002) *Biophys. J.*, **83**, 2693–2701.
- 14) Lichtenberg, D., Goni, F.M., & Heerklotz, H. (2005) *Trends Biochem. Sci.*, **30**, 430–436.
- 15) Kurzchalia, T.V., Dupree, P., Parton, R.G., Kellner, R., Virta, H., Lehnert, M., & Simons, K. (1992) *J. Cell Biol.*, **118**, 1003–1014.
- 16) Saeki, K., Miura, Y., Aki, D., Kurosaki, T., & Yoshimura, A. (2003) *EMBO J.*, **22**, 3015–3026.
- 17) Nagatsuka, Y., Hara-Yokoyama, M., Kasama, T., Takekoshi, M., Maeda, F., Ihara, S., Fujiwara, S., Ohshima, E., Ishii, K., Kobayashi, T., Shimizu, K., & Hirabayashi, Y. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 7454–7459.
- 18) Yamaji, A., Sekizawa, Y., Emoto, K., Sakuraba, H., Inoue, K., Kobayashi, H., & Umeda, M. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 5300–5306.
- 19) Yamaji-Hasegawa, A., Makino, A., Baba, T., Senoh, Y., Kimura-Suda, H., Sato, S.B., Terada, N., Ohno, S., Kiyokawa, E., Umeda, M., & Kobayashi, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 22762–22770.
- 20) Ishitsuka, R., Yamaji-Hasegawa, A., Makino, A., Hirabayashi, Y., & Kobayashi, T. (2004) *Biophys. J.*, **86**, 296–307.
- 21) Kiyokawa, E., Baba, T., Otsuka, N., Makino, A., Ohno, S., & Kobayashi, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 24072–24084.
- 22) Fujita, A., Cheng, J., Hirakawa, M., Furukawa, K., Kusunoki, S., & Fujimoto, T. (2007) *Mol. Biol. Cell*, **18**, 2112–2122.
- 23) Gomez-Mouton, C., Abad, J.L., Mira, E., Lacalle, R.A., Gallardo, E., Jimenez-Baranda, S., Illa, I., Bernad, A., Manes, S., & Martinez, A.C. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 9642–9647.
- 24) Janich, P. & Corbeil, D. (2007) *FEBS Lett.*, **581**, 1783–1787.
- 25) Murase, K., Fujiwara, T., Umemura, Y., Suzuki, K., Iino, R., Yamashita, H., Saito, M., Murakoshi, H., Ritchie, K., & Kusumi, A. (2004) *Biophys. J.*, **86**, 4075–4093.
- 26) Simons, K. & van Meer, G. (1988) *Biochemistry*, **27**, 6197–6202.
- 27) Fukasawa, M., Nishijima, M., Itabe, H., Takano, T., & Hanada, K. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 34028–34034.
- 28) Holopainen, J.M., Metso, A.J., Mattila, J.P., Jutila, A., & Kinunen, P.K. (2004) *Biophys. J.*, **86**, 1510–1520.
- 29) Lindblom, G., Oradd, G., & Filippov, A. (2006) *Chem. Phys. Lipids*, **141**, 179–184.
- 30) Puri, V., Watanabe, R., Dominguez, M., Sun, X., Wheatley, C. L., Marks, D.L., & Pagano, R.E. (1999) *Nat. Cell Biol.*, **1**, 386–388.
- 31) Kobayashi, T., Beuchat, M.H., Lindsay, M., Frias, S., Palmiter, R.D., Sakuraba, H., Parton, R.G., & Gruenberg, J. (1999) *Nat. Cell Biol.*, **1**, 113–118.
- 32) Takahashi, M., Murate, M., Fukuda, M., Sato, S.B., Ohta, A., & Kobayashi, T. (2007) *Mol. Biol. Cell*, **18**, 2667–2677.
- 33) Choudhury, A., Dominguez, M., Puri, V., Sharma, D.K., Narita, K., Wheatley, C.L., Marks, D.L., & Pagano, R.E. (2002) *J. Clin. Invest.*, **109**, 1541–1550.
- 34) Lebrand, C., Corti, M., Goodson, H., Cosson, P., Cavalli, V., Mayran, N., Faure, J., & Gruenberg, J. (2002) *EMBO J.*, **21**, 1289–1300.
- 35) Choudhury, A., Sharma, D.K., Marks, D.L., & Pagano, R.E. (2004) *Mol. Biol. Cell*, **15**, 4500–4511.
- 36) Ganley, I.G. & Pfeffer, S.R. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 17890–17899.
- 37) Prior, I.A., Muncke, C., Parton, R.G., & Hancock, J.F. (2003) *J. Cell Biol.*, **160**, 165–170.
- 38) Wilson, B.S., Steinberg, S.L., Liederman, K., Pfeffer, J.R., Surviladze, Z., Zhang, J., Samelson, L.F., Yang, L.-h., Kotula, P. G. & Oliver, J. (2004) *Mol. Biol. Cell*, **15**, 2580–2592.