

complexe enzyme-substrat. Mais le fait que dans le cas présent le substrat soit insoluble, nous suggère les quelques remarques suivantes: (a) Si, comme tout semble l'indiquer², la lipase est une protéine comme les autres enzymes, cette protéine doit avoir une structure spéciale permettant l'établissement de fortes interactions à l'interface. (b) L'existence d'interactions *in vitro* laisse d'autre part supposer que la lipase se fixe également dans l'intestin sur l'émulsion glycéridique en cours de digestion. Si, comme le veut la théorie de la résorption particulaire³, les globules de l'émulsion sont capables de traverser la muqueuse, il est concevable que la lipase les suive et soit par conséquent responsable de la resynthèse des triglycérides dans cette muqueuse. (c) Enfin, la présence permanente de la lipase à l'interface nous aide à comprendre comment l'enzyme réussit, malgré sa solubilité dans l'eau, à hydrolyser rapidement les triglycérides sans qu'il soit nécessaire d'agiter l'émulsion. Nos essais actuels de purification montrent que le "turnover" de l'enzyme à 37° et pH 8.0 est certainement supérieur à 10 fois son poids moléculaire. Il serait difficile d'admettre qu'un nombre aussi considérable de molécules de triglycérides puisse être hydrolysé par minute si l'habitat normal de la lipase était l'eau et si l'enzyme était obligé de venir se fixer à l'interface à chaque cycle réactionnel.

D'autres enzymes lipolytiques d'ailleurs paraissent capables de quitter la phase aqueuse en contractant des associations spécifiques avec leurs substrats insolubles. Le facteur clarifiant du sérum par exemple^{4,5} se fixe sur les chylomicrons. Le comportement exact de la phosphatidase A du pancréas vis à vis des phosphatides en émulsion n'est pas connu. Mais il semble que les interactions soient dans ce cas particulièrement fortes, puisque l'enzyme accompagne les phosphatides dans l'oxyde d'éthyle et poursuit leur hydrolyse au sein du solvant⁶. Nous pourrions donc bien nous trouver devant un mécanisme général, caractéristique de la biochimie des lipides et compensant dans une certaine mesure l'insolubilité gênante de ces substances dans l'eau.

Notons pour terminer que la fixation de la lipase sur les globules gras est maximum à un pH (pH 5.8) où la vitesse de la lipolyse proprement dite est nulle. Au pH habituel de la lipolyse (pH 8.0) la fixation sur l'émulsion (ainsi d'ailleurs que sur la tristéarine (Tableau I)) est moins intense. Une émulsion saturée en lipase à pH 5.8 abandonne à peu près 10 % de son activité quand elle est lavée par un tampon à pH 8.0. Il est donc vraisemblable que l'affinité de la lipase pour les triglycérides est plus grande en milieu acide, mais que le complexe lipase-triglycérides se décompose plus vite en milieu alcalin, grâce par exemple à la formation transitoire d'un dérivé acylé de l'enzyme, spontanément hydrolysable au-dessus de pH 7.

Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté des Sciences,
Marseille (France)

L. SARDA
G. MARCHIS-MOUREN
P. DESNUELLE

¹ R. WILLSTAETTER ET E. WALDSCHMIDT-LEITZ, *Z. physiol. Chem.*, 138 (1924) 247.

² L. SARDA, G. MARCHIS-MOUREN, M. J. CONSTANTIN ET P. DESNUELLE, *Biochim. Biophys. Acta*, 23 (1957) 264.

³ A. C. FRAZER, *Physiol. Rev.*, 26 (1946) 103.

⁴ J. E. FRENCH, D. S. ROBINSON ET H. W. FLOREY, *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 38 (1953) 101.

⁵ D. S. ROBINSON, G. H. JEFFRIES ET J. C. F. POOLE, *Quart. J. Exptl. Physiol.*, 40 (1955) 297.

⁶ D. J. HANAHAN, *J. Biol. Chem.*, 195 (1952) 199.

Reçu le 18 février 1957

Thaw rigor and the delta state of muscle

An isolated muscle fibre, stimulated to shorten by more than about one third of its initial length, enters the "delta state"; it does not return spontaneously to its original length, and after being re-extended, exerts less than the normal isometric tension on stimulation¹. Isolated muscles shorten reversibly by up to about 50% when stimulated, and by up to at least 70% when passing into the delta state². It has been suggested^{2,3} that irreversibility in the delta state is due to the rupture or tearing of transverse components of the sarcolemma.

We have recently examined certain features of "thaw rigor", the extreme shortening which occurs during the thawing of an isolated muscle previously frozen before the onset of rigor mortis^{4,5}. It is the purpose of this note to suggest a similarity between thaw-shortened muscle and muscle in the delta state.

Strips of lamb longissimus dorsi muscle, about 5 cm in length (along the fibre axis) and 0.25-0.5 sq.cm in cross-section, were placed in glass tubes and quickly frozen in solid carbon dioxide and alcohol (—70°). After at least an hour they were removed from the tubes and thawed on a glazed plate. The length and weight of each strip were recorded before thawing commenced and again after all physical changes were complete. Shortening values of 0-80% of the initial length

were obtained by freezing the strips at different stages of the onset of rigor or by thawing at different ambient temperatures (0–37°). A few additional results in the lower shortening range were obtained by clamping the ends of the strip at or near its frozen length for at least an hour after thawing; removal of the clamps before this time had elapsed permitted an immediate and appreciable shortening to occur, an aspect of thaw rigor perhaps related to the changes in protein extractability which during the two hours after thawing⁶.

The relation between "drip" exudation—synaeresis as measured by weight loss—and shortening in 103 strips is shown in the figure. It will be seen that very little "drip" is released when the strip shortens by less than about 50%, but that further thaw-shortening is accompanied by "drip" exudation in proportion to the additional length change.

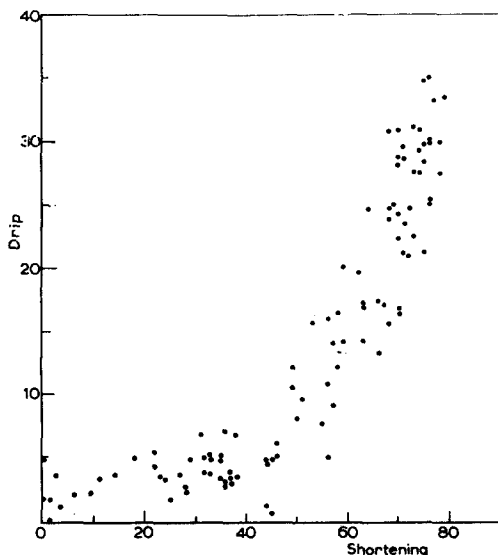


Fig. 1. The relation between "drip" exudation and shortening during the onset of thaw rigor. Values as percentages of initial weight and length respectively.

We suggest that at 50% shortening the elastic limit of a containing membrane is reached, and further shortening is possible only after its rupture. This is essentially the explanation offered by HILL² and FENN³ to account for the delta state. While brief stimulation of a resting muscle causes reversible contraction, a prolonged stimulus produces extreme contraction and onset of the delta state; the sarcolemma is torn but the ability of the proteins to retain fluid remains high and synaeresis does not occur. Similarly, the stimulus provided by freezing a strip of muscle before the onset of rigor mortis and thawing it slowly causes moderate shortening, while the further stimulus of faster thawing causes extreme shortening, membrane rupture and—as a consequence of lactic acid formation and of enzymic dephosphorylation of adenosine triphosphate⁶—copious fluid release.

The extreme shortening of thaw rigor is thus seen as a transition of the muscle to the delta state, complicated by the onset of rigor mortis.

This work is published by permission of the Director, Dominion Laboratory, Wellington.

*Dominion Laboratory, Department of Scientific & Industrial Research,
Wellington (New Zealand)*

B. B. MARSH*
J. F. THOMPSON

¹ R. W. RAMSEY AND S. F. STREET, *J. Cellular Comp. Physiol.*, 15 (1940) 11.

² A. V. HILL, *Proc. Roy. Soc. (London)*, B, 136 (1949) 420.

³ W. O. FENN, in HÖBER'S *Physical Chemistry of Cells and Tissues*, Churchill, London, 1947 p. 453.

⁴ T. MORAN, *Proc. Roy. Soc. (London)*, B, 105 (1930) 177.

⁵ S. V. PERRY, *J. Gen. Physiol.*, 33 (1950) 563.

⁶ P. CREPAX AND A. HÉRION, *Biochim. Biophys. Acta*, 6 (1950) 54.

⁷ W. A. EMPEY, *J. Soc. Chem. Ind. (London)*, 52 (1933) 230T.

⁸ B. B. MARSH, *Biochim. Biophys. Acta*, 9 (1952) 247.

Received March 4th, 1957

* Present address: Meat Industry Research Institute of New Zealand, Box 345, Wellington, New Zealand.