

(Gafni et Brand, 1976) ou donnant un produit fluorescent (Ladokhin et Brand, 1995), et la formation d'un exciplex (conformation repliée et dépliée sont en équilibres à la fois à l'état fondamental et à l'état excité) (Visser et VanHoek, 1981). Pour NAD(P)H en solution aqueuse il semble qu'en tout cas il y ait bien une hétérogénéité de l'état fondamental (forme repliée et forme dépliée) (Couprie et al., 1994; Ladokhin et Brand, 1995).

I.3.1.2. Conséquences de la liaison avec les protéines

Lorsqu'il se lie aux protéines NAD(P)H a une fluorescence dont les caractéristiques sont différentes de celle de NAD(P)H en solution aqueuse. Cette liaison se traduit par un déplacement du spectre d'émission d'environ 20 nm vers les courtes longueurs d'onde (Duysens et Kronenberg, 1957; Velick, 1961; Hsu et Lardy, 1967; Li et Lin, 1996). Elle se traduit aussi par une augmentation du rendement quantique et du temps de vie de fluorescence. Le facteur d'augmentation étant visiblement le même pour les deux paramètres (Scott et al., 1970). NAD(P)H lié aux protéines est 3-5 fois plus fluorescent (Duysens et Kronenberg, 1957; Langan, 1960; Scott et al., 1970) (des augmentations plus importantes ont été mesurées (Harvey et al., 1972)). Cette augmentation peut être encore plus grande dans le cas de complexes ternaires NAD(P)H-enzyme-substrat (Hsu et Lardy, 1967; Scott et al., 1970; Gafni et Brand, 1976). De même, la liaison de NAD(P)H avec les protéines accroît son temps de vie de fluorescence (Scott et al., 1970; Lakowicz et al., 1992; König et al., 1997), mais la valeur exacte du temps de vie dépend de la protéine et de la présence d'un troisième ligand (ex. Brochon et al., 1977; Baumgarten et Hönes, 1988). De plus, comme pour le NAD(P)H libre, la fluorescence du NAD(P)H lié aux protéines comporte plusieurs composantes temporelles de temps de vie différents (ex. Lakowicz et al., 1992). Les données de la littérature montrent qu'il y a essentiellement deux temps de vie pour NAD(P)H lié aux protéines : un vers 1-2 ns et un autre vers 3-6 ns (Brochon et al., 1976; Gafni et Brand, 1976; Brochon et al., 1977; Ladokhin et Brand, 1995; Kierdaszuk et al., 1996). Une partie des hypothèses envisagées pour expliquer l'existence de plusieurs temps de vie de fluorescence pour NAD(P)H, et que nous avons