

énumérées dans le cas du NADP(H) libre, ont été formulées dans le but d'expliquer aussi l'hétérogénéité de temps de vie de fluorescence du NAD(P)H lié, sachant qu'avec NAD(P)H lié il n'y a pas d'équilibre entre conformation repliée et conformation dépliée. En effet, différentes techniques de mesures s'accordent sur le fait que NAD(P)H se lie aux protéines dans sa forme dépliée (Salmon et Viallet, 1977). Un des arguments menant à cette conclusion est la disparition du pic à 260 nm dans le spectre d'excitation de NAD(P)H lié (Velick, 1961; Salmon et Viallet, 1977). Il est généralement remplacé par un pic vers 290 nm qui correspond à l'absorption par les protéines et traduit donc un transfert d'énergie d'excitation des protéines vers le NAD(P)H lié (ce transfert est discuté plus en détail ultérieurement section III.3.2.1.). Il faut noter que dans la littérature on trouve le cas de protéines avec lesquelles la fluorescence de NAD(P)H n'augmente pas lorsqu'il se lie (Velick, 1958; Velick, 1961) ou lorsque cette liaison est non-spécifique (Weiner et al., 1972).

I.3.2. Fluorescence des flavines

La structure des trois principales flavines (riboflavine, FMN et FAD) sont présentées Fig. I.12. C'est le groupement isoalloxazine qui est responsable de la fluorescence verte des flavines et plus précisément sa forme oxydée, la forme réduite des flavines n'est pas fluorescente (Velick, 1961; Spencer et Weber, 1972). Les spectres d'absorption, d'émission et d'excitation de fluorescence des flavines sont présentés Fig. I.13 dans le cas de FAD. Les flavines ont trois pic d'absorption/excitation (vers 260 nm, 370 nm et 450 nm) et un pic d'émission vers 530 nm. Le groupement isoalloxazine est aussi responsable de l'absorption de la lumière. Dans le cas du FAD, il y a aussi une participation du groupement adénine au pic d'absorption à 260 nm mais, contrairement au NAD(P)H, il n'y a pas d'excitation de fluorescence par absorption de l'adénine (Velick, 1961). Riboflavine et FMN sont fortement fluorescents; le rendement quantique de fluorescence du FMN est d'environ 25 % (Velick, 1961). Le rendement quantique de fluorescence du FAD est environ un dixième de celui du FMN (Velick, 1961; Spencer et