

# **Biologie Moléculaire et Génie Génétique**

Dr. SELKA SARRA

Université Abou Bekr Belkaid

Tlemcen Faculté SNV-STU

Département de Biologie

Email : [s.selka.sek@gmail.com](mailto:s.selka.sek@gmail.com)

1.0

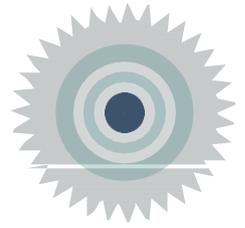


# Table des matières

<b>Objectifs</b>	<b>3</b>
<b>Connaissances préalables :</b>	<b>4</b>
<b>Contenu du cours:</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUCTION</b>	<b>6</b>
<b>Les bases de la biologie moléculaire</b>	<b>7</b>
<b>Chapitre I: Les principaux outils de Génie génétique</b>	<b>8</b>
1. LES ENZYMES .....	8
1.1. Les enzymes qui coupent l'ADN .....	8
1.2. Les enzymes qui ligaturent.....	10
1.3. Les enzymes qui déphosphorylent.....	10
1.4. Les enzymes qui phosphorylent.....	10
1.5. Les enzymes qui recopient un acide nucléique .....	10
Outils enzymatiques du génie génétique.....	11
2. LES VECTEURS.....	11
I- Les bactériophages .....	11
II- Les plasmides .....	14
III- Les phagémides.....	16
VI- Les cosmides.....	17
V- Les vecteurs navette.....	17
VI- Les banques YAC (yeast artificial chromosome) .....	18
VII- Les BAC (Chromosome Artificiel Bactérien).....	18
VIII- Le plasmide Ti d <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	19
IX- Baculovirus .....	20
X- Les vecteurs viraux des mammifères .....	20
XI- Transfert direct des gènes.....	21
3. LA CELLULE HOTE.....	21
4. LES SONDAS NUCLEOTIDIQUES .....	22

# Objectifs

---



## **Au terme du cours, l'étudiant sera capable de:**

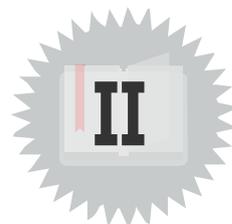
- Acquérir les connaissances permettant de comprendre les phénomènes biologiques allant de l'organisation du génome à la protéine.
- Démontrer les principaux outils utilisés en biologie moléculaire : enzymes de restriction et de modification des acides nucléiques, clonage, PCR, techniques de séquençage.....
- Distinguer les méthodes d'étude des mécanismes moléculaires.
- Désigner des notions théoriques de génie génétique.
- Poser et traiter de manière critique des exemples d'application du génie génétique dans les domaines microbiens, animal et végétal

## Connaissances préalables:

---



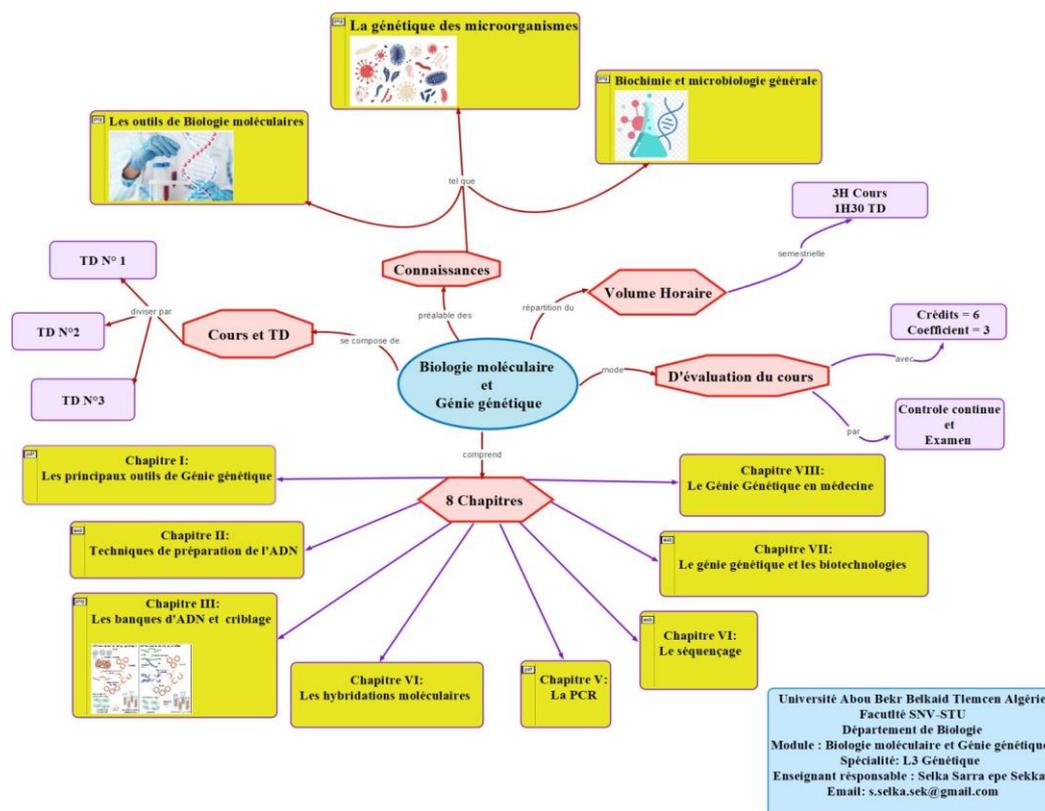
- Biochimie et microbiologie général
- La génétique des microorganismes
- Les outils de biologie moléculaire



# Contenu du cours:

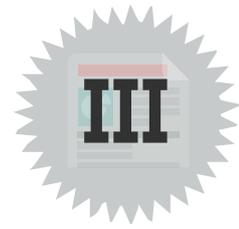
Le cours est structuré en huit unités d'apprentissages:

- 1- Les principaux outils de génie génétique
- 2- Techniques de préparation de l'ADN
- 3- Les banques d'ADN et criblage
- 4- Les hybridations moléculaires
- 5- La PCR
- 6- Le séquençage
- 7- Le génie génétique et les biotechnologies
- 8- Le génie génétique en médecine



# INTRODUCTION

---



La biologie moléculaire est une discipline scientifique au croisement de la génétique, de la biochimie et de la physique dont l'objet est la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule au niveau moléculaire qui permettent la conservation et la perpétuation de la structure vivante au niveau du génotype. Elle désigne également l'ensemble des techniques de manipulation d'acides nucléiques (ADN, ARN), appelée aussi techniques de génie génétique. Pour cela, les techniques d'étude et de modification des gènes et de leur expression font partie intégrante de la biologie moléculaire.

La biologie moléculaire est une discipline scientifique qui décrit la manière dont l'information génétique est conservée, transmise et exprimée.

Le génie génétique est un « ensemble de techniques permettant d'identifier et d'isoler, de modifier et de transférer de façon contrôlée du matériel génétique ».

Le génie génétique est une science qui s'attache à l'étude du vivant ainsi que son amélioration, il comprend l'ensemble des techniques et approches utilisés dans la modification et l'étude des gènes.

Les méthodes biologiques moléculaires sont utilisées dans la recherche biologique et médicale moderne, mais ont également trouvé leur place dans la criminalistique et dans de nombreux autres domaines de la vie quotidienne. La biologie moléculaire utilise diverses techniques de génie biochimique, microbiologique, génétique et en génie génétique et combine leurs résultats pour obtenir un contexte plus large.

# Les bases de la biologie moléculaire

---



[https://www.supagro.fr/ress-tice/ue1-ue2\\_auto/Bases\\_Biologie\\_Moleculaire\\_v2/co/0\\_module\\_bases\\_biologie\\_moleculaire\\_V2.html](https://www.supagro.fr/ress-tice/ue1-ue2_auto/Bases_Biologie_Moleculaire_v2/co/0_module_bases_biologie_moleculaire_V2.html)

# Chapitre I: Les principaux outils de Génie génétique



## 1. LES ENZYMES

### 1.1. Les enzymes qui coupent l'ADN

#### a) Les enzymes de restriction :

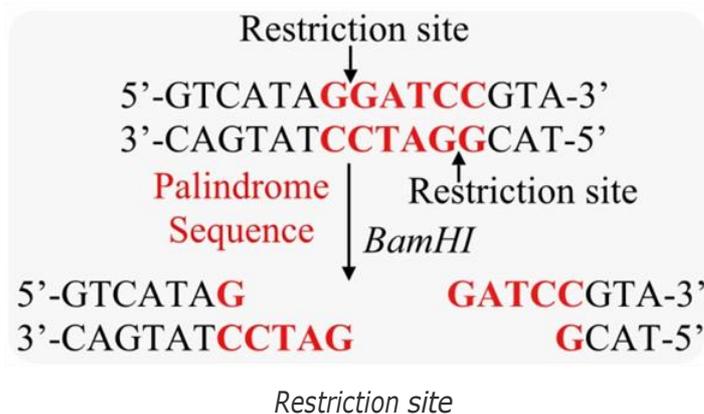
Les enzymes de restrictions sont des protéines ayant une activité enzymatique caractérisée par une capacité de **couper l'ADN double brin**, de ce fait elles font partie de la grande famille des **endonucléases**.

- **Le phénomène de restriction :**

Le phénomène de restriction est une réaction chimique qui aboutit au clivage d'un *ADN* **bicataire de manière séquence spécifique**.

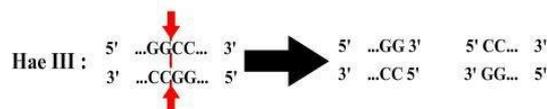
Il existe dans la nature un nombre important d'enzymes isolées à partir des bactéries, chaque enzyme **reconnait une séquence spécifique** de 4 à 8 paires de bases qui forment un **palindrome**, c'est-à-dire ayant la même séquence sur les deux brins, mais en **direction opposée**.

La coupure de l'ADN peut aboutir à la libération de bouts **francs** ou de bouts **cohésives** (complémentaire, reformer un double brin).

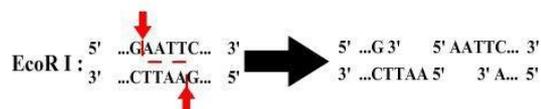


- **Types de coupure**

Extrémités non cohésives :



Extrémités cohésives :



Type de coupure

Séquences de reconnaissances de quelques endonucléases		
Organism	Enzyme designation <sup>a</sup>	Recognition sequence <sup>b</sup>
<i>Bacillus globigii</i>	BgIII	A↓GATCT
<i>Bacillus subtilis</i>	BsuRI	GG↓CC
<i>Brevibacterium albidum</i>	BalI	TGG↓CCA
<i>Escherichia coli</i>	EcoRI	G↓AATTC <sup>c</sup>
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	HhaI	GCG↓C
<i>Haemophilus influenzae</i>	HindII	GTPy↓PuAC
<i>Haemophilus influenzae</i>	HindIII	A↓AGCTT
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	KpnI	GGTAC↓C
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	NotI	GC↓GGCCGC
<i>Proteus vulgaris</i>	PvuI	CGAT↓CG
<i>Serratia marcescens</i>	SmaI	CCC↓GGG
<i>Thermus aquaticus</i>	TaqI	T↓CGA



**--Notion d'isoschizomères:**

Enzymes de restriction **différentes** peuvent reconnaître des **mêmes sites spécifiques**.

Ils fournissent souvent après clivage enzymatique des fragments dont les extrémités sont différentes.

**--Notion d'enzymes compatibles :**

Deux enzymes de restriction sont dites compatibles quand elles génèrent après digestion des fractions aux **extrémités cohésives complémentaires**.

**b) Les nucléases :**

Les nucléases dégradent les molécules d'ADN en **rompant les liaisons phosphodiester** liant un nucléotide au suivant, Il existe 2 types de nucléases :

• **La Dnase:**

Coupe l'ADN double brin et simple brin au hasard.

Origine bovine (pancréas)

La DNase 1: coupe préférentiellement après une base pyrimidique.

• **La nucléase SI:**

Attaque l'ADN simple brin.

Isoler d'*Aspergillus oryzae* (champignon)

**c) Les autres enzymes d'usage courant en biologie moléculaire:**

En génie génétique il existe en plus des enzymes de restrictions utilisées traditionnellement pour le clonage moléculaire, d'autres familles d'enzymes utilisées dans différentes expérimentations.

**- Les polymérases :**

Les ADN polymérases sont des enzymes ayant la capacité de néosynthétiser de l'ADN à partir d'une matrice d'ADN simple brin ou d'un ARN pour les reverse transcriptases.

- **La reverse transcriptase** est utilisée pour la synthèse d'**ADN complémentaire (ADNc)** obtenus **à partir** d'une matrice d'**ARNm**.
- **La taq polymérase** est l'une des ADN polymérase les plus utilisée au monde, sa spécificité réside dans sa capacité à **résister à de forte température**, elle est utilisée dans la **PCR (Polymerase Chaine Reaction)** qui est une technique permettant d'**amplifier de manière importante et spécifique** des fragments d'**ADN**.

## 1.2. Les enzymes qui ligaturent

**L'ADN ligase** : répare les discontinuités qui peuvent apparaître dans un ADN double brins ; permet de relier les 2 fragments d'ADN double brins (enzyme capitale puisqu'elle permet la construction de molécules d'ADN recombinées).

- **ADN ligase** : L'enzyme n'agit que si les 2 ADN sont associés par des **extrémités cohésives**, cette ligase assure la formation des liaisons phosphodiesters entre une extrémité 3'OH et une extrémité 5' phosphate.
- **T4 ADN ligase** : Elle est capable d'effectuer des ligations entre 2 ADN à **bouts francs**.

## 1.3. Les enzymes qui déphosphorylent

### Les phosphatases alcalines

- Active (*pH* alcalin)
- Origine bactérienne ou bovine
- Elimination d'un groupement P en 5' d'une chaine d'ADN.

## 1.4. Les enzymes qui phosphorylent

### Les kinases

- Transfert d'un groupement P à partir d'une molécule d'*ATP* à l'extrémité 5' de l'ADN déphosphorylé
- Extraites de bactéries.

## 1.5. Les enzymes qui recopient un acide nucléique

- **ADN ADN** : ADN pol I , Klenow, Séquenase, La *Taq pol*
  - **ARN ADN** : La retrotranscriptase RT
    - **ADN ARN**: L'ARN pol.



**ADN polymérase :** (les polymérases) sont des enzymes ayant la capacité de néosynthétiser de l'ADN à partir d'une matrice d'ADN simple brin.

**La séquenase:** sont une famille d'enzymes issues de la DNA polymérase du bactériophage T7, elles sont dépourvues par une modification du gène de toute activité d'édition (5'→3' exonucléase et 3'→5' exonucléase), sont les plus rapides de toutes les DNA polymérases, elles sont utilisées dans les techniques de séquençage avec des didésoxyribonucléotides (Sanger).

**Fragment de Klenow:** une enzyme préparée à partir de l'ADN polymérase I (l'hydrolyse de l'ADN polymérase d'*Escherichia coli* par une protéase), présentant les activités de (polymérase 5' → 3') et (d'exonucléase 3' → 5'), mais (sans activité exonucléase 5' → 3'), utilisé en particulier dans le séquençage de l'ADN et la synthèse du second brin de l'ADNc = (enzymes qui recopient un acide nucléique).

**Taq pol :** *Thermus aquaticus* est une bactérie thermophile, elle possède des enzymes thermorésistantes, La Taq poly est dépourvue d'activités d'édition (5'→3'exonucléase et 3' 5' exonucléase), La Taq polymérase est utilisée pour la réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction = PCR), technique courante d'amplification des fragments de DNA.

## Outils enzymatiques du génie génétique

[https://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/snv\\_genet-outils\\_genie\\_genetique.pdf](https://univ.ency-education.com/uploads/1/3/1/0/13102001/snv_genet-outils_genie_genetique.pdf)

## 2. LES VECTEURS

**Le choix du vecteur dépend du type d'approche choisie lors de l'étude**



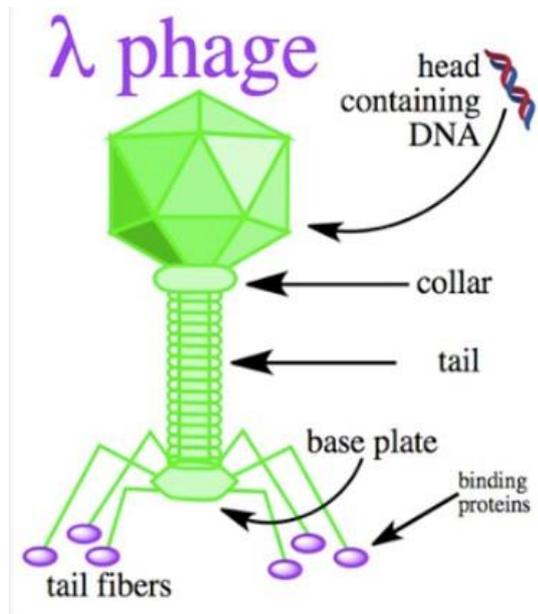
**Fondamental**

Un vecteur est un véhicule de transport qui permet **le transfert d'une séquence d'ADN spécifique dans une cellule hôte** (Ex Bactérie), cette insertion doit assurer **la réplication ou l'expression** de cet acide nucléique dans la cellule qui le reçoit. Il existe plusieurs types de vecteurs, on peut citer :

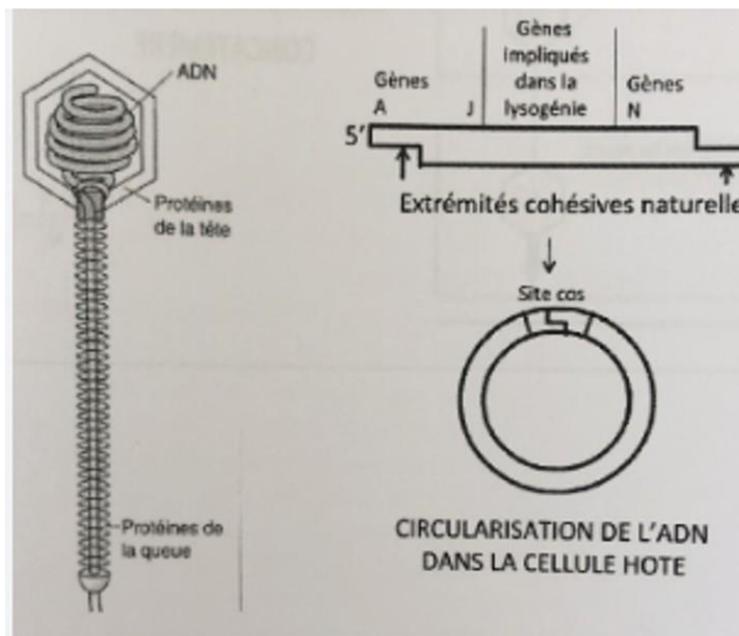
- **Les vecteurs de clonage** qui sont utilisés pour le stockage et la multiplication de fragments d'ADN (amplifier le nombre de copies).
- **Les vecteurs d'expression** destinés à transférer un gène et le faire exprimer dans une cellule hôte qui n'est pas sa cellule d'origine.

### 2.1. Les bactériophages

1- **Phage λ:** bactériophage lambda est un virus qui infecte les souches d' E coli. L'**ADN** du phage est une molécule **linéaire** de 48,5 Kpb compacté dans la capsid, il porte à **ses extrémités des séquences cohésives** dites **extrémités cos**. Après injection dans la cellule, cet **ADN** se **recircularisé sur lui spontanément par les extrémités cos** et la forme circulaire est stabilisée par la ligase de l'hôte.



Phage lambda



Structure phage lambda

### Cycle biologique du phage $\lambda$ (lambda):

- **Cycle lytique :**

**Adsorption :** Le phage se fixe à la paroi cellulaire de la bactérie hôte (comme E. coli) via des récepteurs spécifiques.

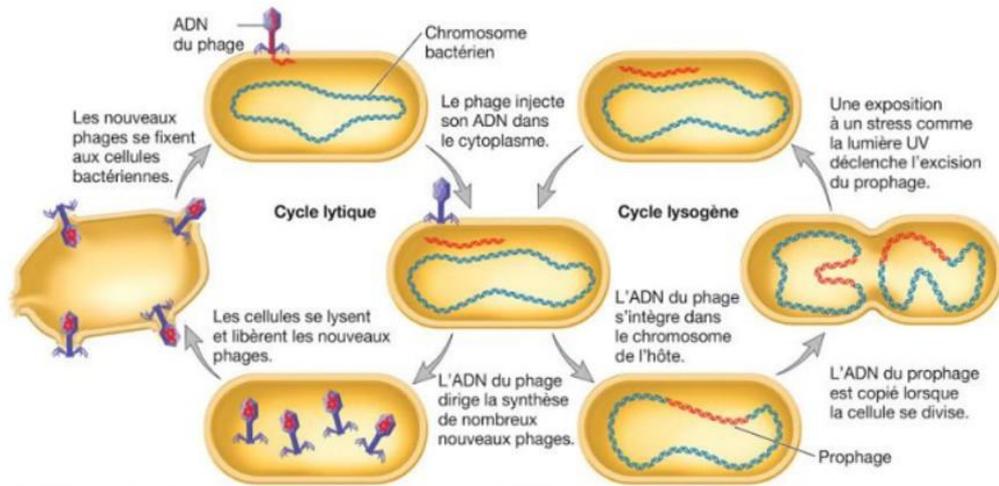
**Injection :** Le matériel génétique du phage (ADN double brin) est injecté dans la cellule bactérienne.

**Réplication :** Le phage utilise la machinerie de la cellule pour répliquer son ADN, fabriquer des protéines virales, et assembler de nouveaux phages.

**Lyse :** Une fois un grand nombre de particules virales formées, des enzymes virales provoquent la lyse de la cellule hôte, libérant les nouveaux phages pour infecter d'autres cellules.

### Cycle lysogénique :

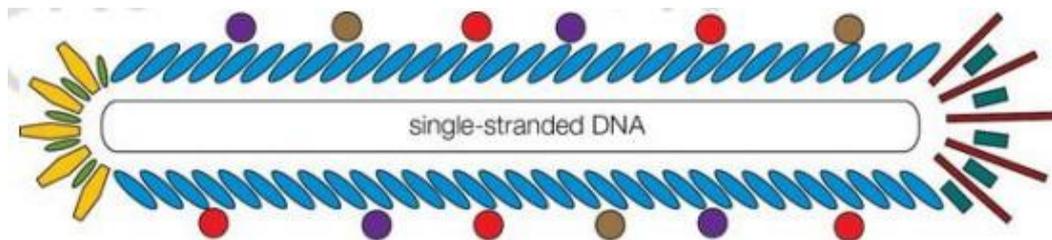
**Intégration** : Après l'injection, l'ADN du phage peut s'intégrer dans le génome de la cellule hôte sous forme de prophage. Le phage reste alors en dormance, et la bactérie continue de se diviser normalement, transmettant l'ADN du phage à ses descendantes.



Cycle lytique et cycle lysogénique des bactériophages (Lansing et al., 2003).

2- **Phage M13**: Filamenteux , spécifique pour E. coli (plasmide F), ADN sb circulaire (brin +) 6.4kb , 10 gènes + 2 régions non codantes.

Le phage M13 est un bactériophage filamenteux qui infecte les bactéries à Gram négatif, en particulier E. coli, via le pilus sexuel F. Contrairement au phage  $\lambda$ , M13 ne provoque pas la lyse des cellules hôtes.



Phage M13

### Cycle de M13:

**Adsorption** : Le phage M13 se fixe à la bactérie via le pilus F, nécessaire à l'infection.

**Injection** : Le matériel génétique du phage, sous forme d'ADN simple brin (ssDNA), est injecté dans la cellule hôte.

**Réplication** : Une fois dans la cellule, l'ADN simple brin est converti en ADN double brin réplcatif, servant de matrice pour la production de nouveaux ADN simples brins viraux et de protéines virales.

**Assemblage** : Contrairement au phage  $\lambda$ , le phage M13 ne provoque pas la lyse de la cellule hôte. Les nouveaux phages sont assemblés à la membrane de la bactérie et sont extrudés progressivement à travers la membrane cellulaire, sans détruire la bactérie.

**Émission** : Les phages sortent de la cellule sans provoquer sa mort. Cela permet à la bactérie hôte de continuer à croître et à produire de nouveaux phages pendant un certain temps.

## 2.2. Les plasmides

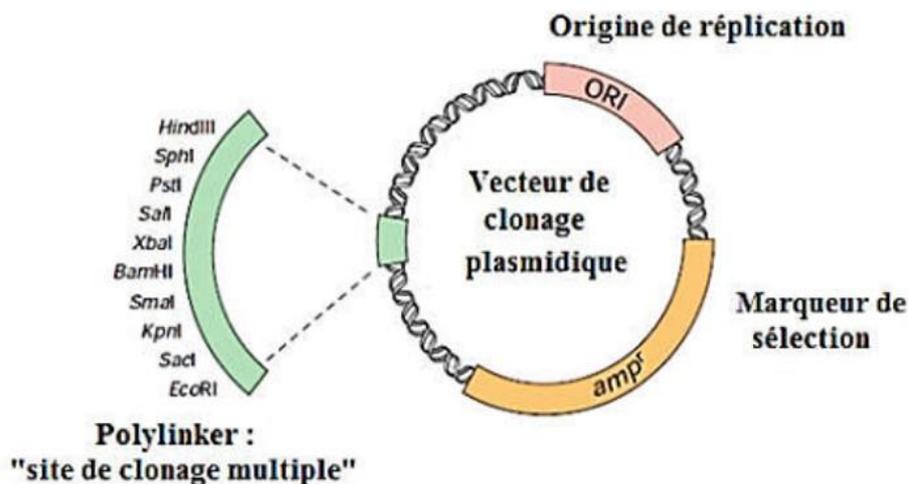
- Petit ADN double brin circulaire, extrachromosomique
- Origine bactérienne
- Réplication autonome (indépendants du génome bactérien).

### Les premiers utilisés en génie génétique :

- Ce sont des plasmides à l'état naturel, non modifiés au laboratoire
- Il s'agit des plasmides suivants : ColE1/ RSF 2124 / pSC 101

Les plasmides de seconde génération sont des plasmides dérivés de ceux de première génération, mais ayant subis des modifications afin de les améliorer, notamment par :

- l'ajout de gène de résistance à différents antibiotiques, ceci afin d'améliorer le processus de sélection des clones.
- Par l'ajout d'un site de multicolonnage possédant des sites de restrictions pour plusieurs enzymes dans le but de faciliter l'intégration de l'insert.



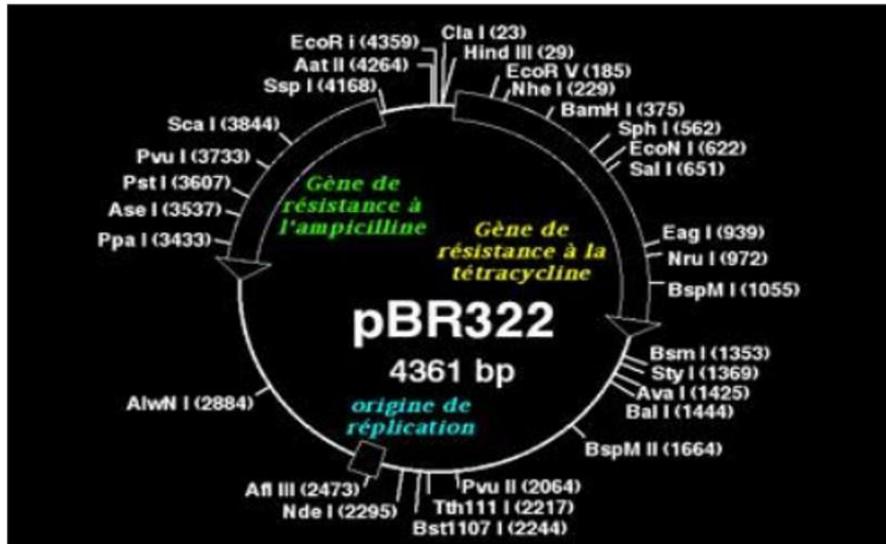
Composants basiques d'un vecteur plasmidique qui peut se répliquer chez *E. coli*

### Les plasmides artificiels :

La série la plus importante de ces plasmides est la série **pBR 312 à pBR 322**.

### Les plasmides pBR322

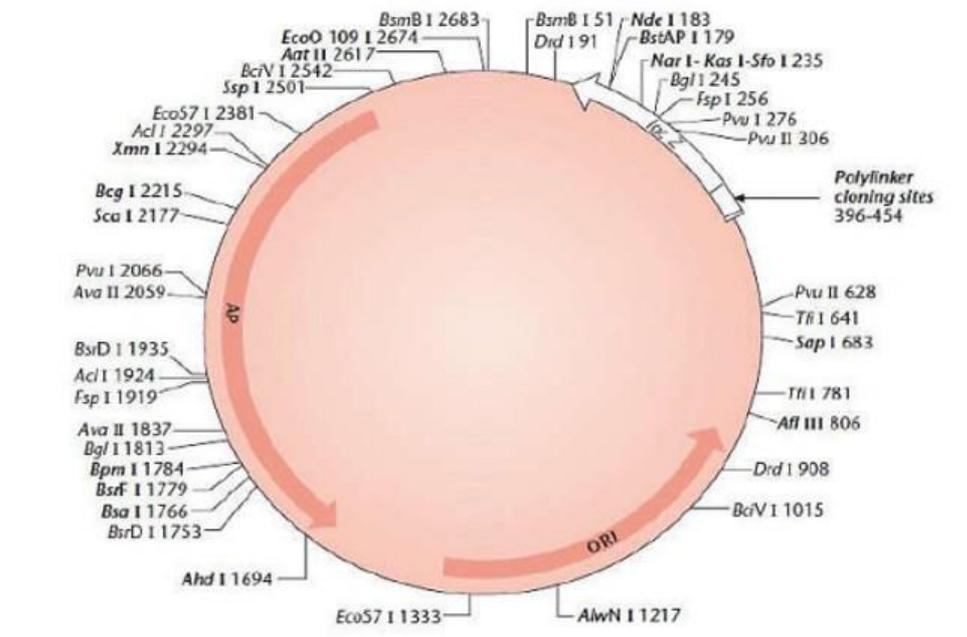
- Le plasmide pBR est constitué d'environ 4,4 Kb.
- Possède deux gènes de résistance à la tétracycline et à l'ampicilline.
- Il possède 20 sites de restriction uniques dont 11 localisés sur les deux gènes de résistance.



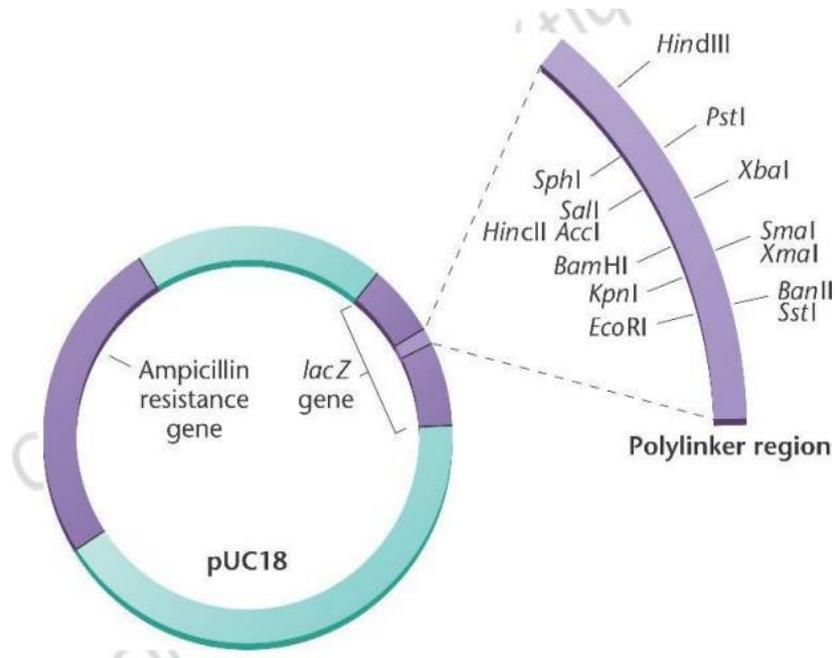
Le plasmide pBR322

### La famille des pUC (pUC18 - pUC19):

- Ont une taille qui avoisine 2,6 Kb.
- Un plasmide pUC est un plasmide pBR dans lequel on a **remplacé le gène de résistance à la tétracycline** par un **gène bactérien lacZ** qui code la  $\beta$ -galactosidase.



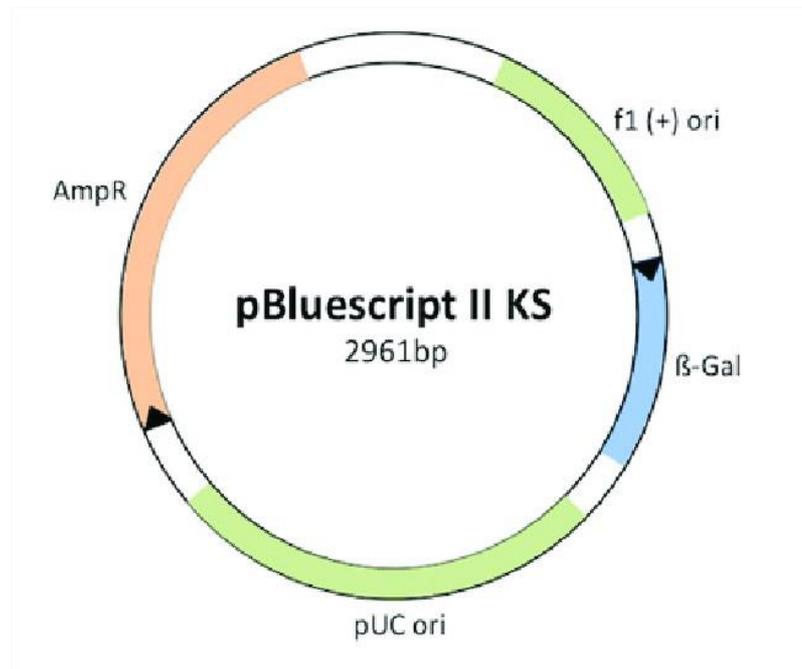
La carte génétique de certains vecteurs de type pUC dérivés de pBR322, le site de clonage multiple (polylinker) est introduit dans le gène *lacZ*, sans interrompre la fonction du gène.



Vecteur pUC18

### 2.3. Les phagémides

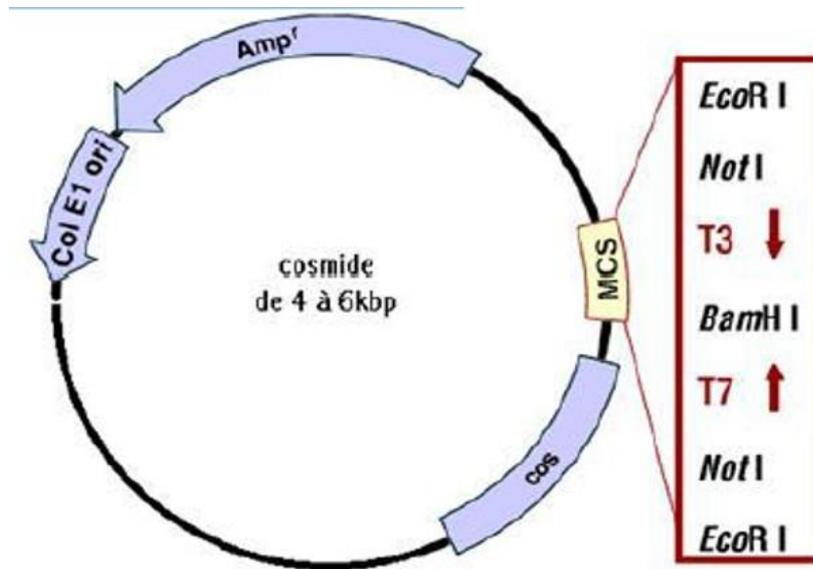
**Vecteur artificiel hybride :** (phage M13+plasmide) (AMP résistance + Origine de réplcation comme bactérie + Origine de réplcation comme phage), exemple : **pBluescript II**.



## 2.4. Les cosmides

**Vecteur artificiel hybride** (Phage  $\lambda$ + plasmide), possèdent polylinker + AmpR (propriété des plasmides) + extrémités cos (site cos : site de clivage).

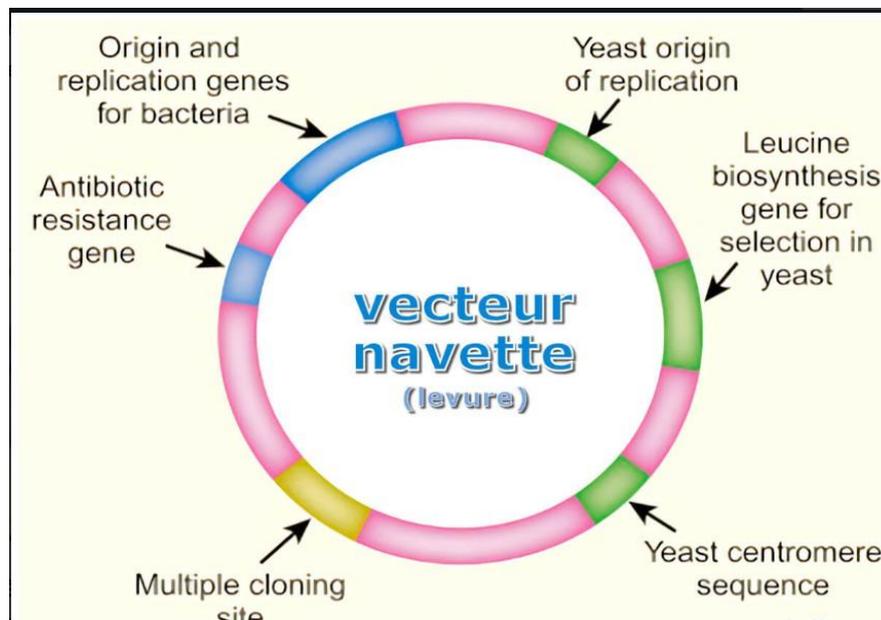
Originalité : présence des extrémités cos.



## 2.5. Les vecteurs navette

Un plasmide qui peut être présent chez plusieurs espèces.

Réplication dans une cellule Bactérienne et l'expression dans une cellule eucaryote.



## 2.6. Les banques YAC (yeast artificial chromosome)

Chromosome artificiel de la levure

-Cellule hôte eucaryote : la levure *saccharomyces cerevisiae*

-Se réplique de la même façon que le chromosome de la Cellule hôte (même caractéristiques)

**Un vecteur YAC contient :**

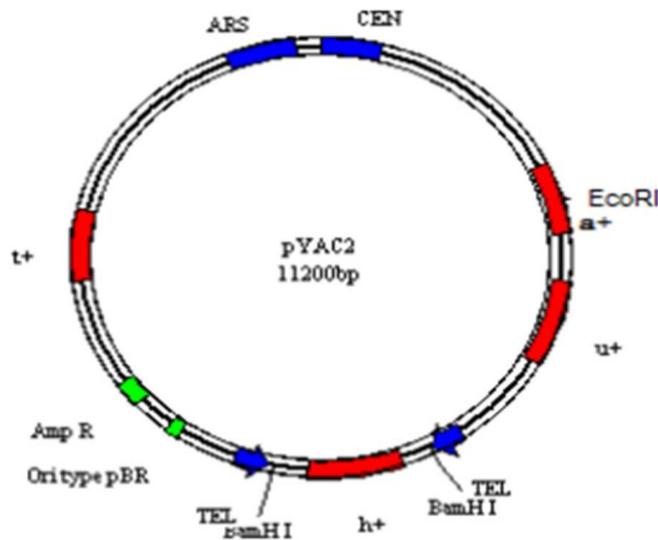
-Un centromère (CEN) et deux télomères (TEL)

-Une séquence de réplication autonome (ARS) pour la multiplication dans les cellules hôtes

-Des sites de restriction SmaI et Bam HI

-Un marqueur de sélection à l'ampicilline (Amp R)

-Des gènes qui codent des enzymes nécessaires dans la synthèse d'acides aminés : u+ (Ura), t+ (Trp), h+ (His) et a+ (Ade)



## 2.7. Les BAC (Chromosome Artificiel Bactérien)

Chromosome artificiel bactérien, c'est un vecteur servant à cloner de grands fragments d'ADN (100 à 300kb) dans une cellule d'*E. coli*.

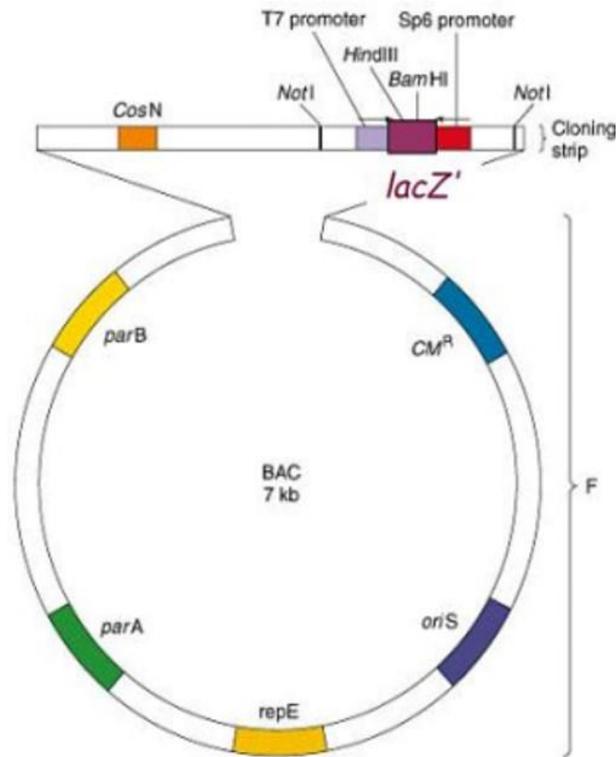
Les BAC sont des ADN circulaires, comme un chromosome bactérien, dont l'origine de réplication est issue de l'épissome sexuel F d' *E. coli* (plasmide impliqué dans la conjugaison bactérienne) .

**Un vecteur Bac contient :**

- Ori S: origine de réplication de l'épissome F

- Les gènes parB et parA de l'épissome servent à la répartition correcte du plasmide dans les cellules filles

- Le gène repE code l'enzyme de réplication de l'épisome
- Site de clonage dans le gène lacZ'
- CmR d'origine plasmidique code la résistance au chloramphénicol (antibiotique)



**Vecteur BAC**

## 2.8. Le plasmide Ti d'*Agrobacterium tumefaciens*

**Plasmide Ti:** pTi (plasmid tumor inducing) de la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*

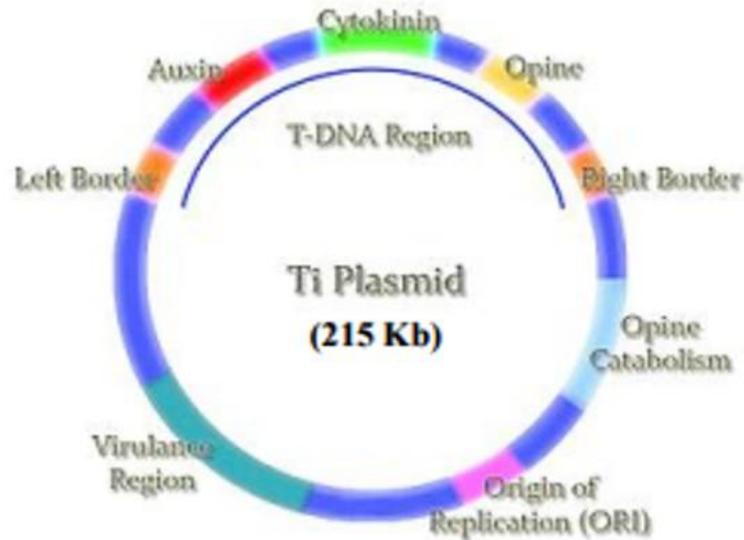
Une partie du plasmide Ti (T-ADN) s'intègre au niveau du chromosome de la cellule Végétal, provoque une croissance non contrôlée, développement d'une blessure en couronne (tumeur).

Utilisation du plasmide Ti pour recombiner (insertion ADN étranger) au lieu de provoquer tumeur il exprime Le gène d'intérêt.

L'ADN-T peut être naturellement transféré à la plante (blessure), la bactérie devient donc capable de transférer un fragment d'ADN étranger dans le noyau des cellules de la plante hôte et de l'intégrer dans l'ADN chromosomique de l'hôte.

Le pTi ne comporte pas de sites uniques de restriction permettant le clonage direct de l'ADN à transférer à la place de leur région.

Donc le remplacement du T-DNA par un gène étranger d'intérêt agronomique permet l'intégration de ce gène dans le génome de la plante d'où l'obtention de plantes transgéniques résistantes aux herbicides, aux virus, aux insectes...



## 2.9. Baculovirus

Infecte les cellules des insectes, comme il a un promoteur très actif on l'utilise pour exprimer notre gène d'intérêt au lieu de produire la polyédrine.

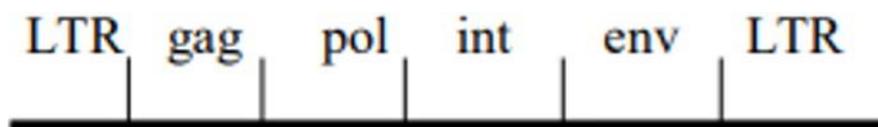
## 2.10. Les vecteurs viraux des mammifères

Vecteurs basés sur des virus, le virus est un parasite intra cellulaire obligatoire le fait de pouvoir pénétrer à l'intérieur de la cellule arriver jusqu'au noyau on peut les utiliser comme vecteur.

-**SV40: virus simien40** : Infecte un grand nombre d'espèces mammifères, ADN db , petite taille

-**Rétrovirus** : virus à ARN, pénètrent dans la cellule eucaryote et convertissent leur génome en ADN (rétrotranscription) pour pouvoir intégrer leur génome dans le génome hôte.

Les gènes viraux « gag », « pol » et « env » peuvent être enlevés pour être remplacés par l'ADN à cloner qui sera donc intégré dans la cellule eucaryote hôte.



**Structure typique du génome d'un rétrovirus.**

### Complément

L'ARN du rétrovirus comporte à chaque extrémité de longues séquences répétées terminales LTR (long terminal repeat).

La partie centrale contient une séquence **gag** qui code pour une **glycoprotéine de structure**, une séquence **pol** codant la **transcriptase inverse**, une séquence **int** responsable de la biosynthèse de l'**intégrase** qui intervient dans l'insertion de l'ADN viral dans l'ADN cellulaire et une séquence **env** qui code une protéine de l'**enveloppe virale**.

## 2.11. Transfert direct des gènes

• **Liposome** : ce sont des particules sphérique artificielles constitué de la bicouche lipidique a l'intérieur des quels il Ya un gène thérapeutique, alors il fusionne avec la membrane plasmique, l'ADN se retrouve a l'intérieur du cytoplasme mais avant d'arrivé au noyau il peut être dégradé par les liposomes donc on doit le protéger dans le cytoplasme.

• **Micro-injection** : injection de l'ADN par la micro seringue jusqu'au noyau sous microscope mais l'intégration est au hasard donc il peut inactiver des gènes très important ou bien activé des gènes proto oncogène (dormant) et deviennent cancérigène (oncogène).

• **Electroporation** : la création des pores (appliquer un champ électrique sur la membrane cellulaire).

## 3. LA CELLULE HOTE

Pour se répliquer, un vecteur doit être incorporé dans une cellule hôte spécifique de chaque type de vecteur, la cellule hôte :

- **Ne doit pas être pathogène**

- **Ne synthétisant pas d'enzyme de restriction**

Exemple : si le vecteur est un **plasmide** la cellule hôte est une **bactérie** ; si le vecteur est un **YAC** la cellule hôte ***S. cereviciea***; si le vecteur est un **Baculovirus** la cellule hôte insecte.

On distingue 2 catégories d'hôtes :

**1- Les hôtes bactériens** : ce sont les hôtes les plus utilisés car ils se multiplient rapidement et sont faciles à manipuler, les bactéries utilisées ne sont pas pathogènes et sont modifiées afin de diminuer les risques de dissémination accidentelle.

La bactérie de choix est E. coli qui doit être :

- Une souche « res- » : ne produit pas des enzymes de restriction pour ne pas détruire l'ADN étranger inséré.
- « recA- » : pour éviter la recombinaison de l'ADN bactérien avec l'ADN inséré
- Réceptrice donc « F- » : incapables de transmettre le plasmide qu'elles ont reçu ; par opposition aux souches donatrices F+

**2- Les hôtes eucaryotes** : Peuvent être des cellules animales en culture, des levures ou des plantes. Leur manipulation est complexe et coûteuse.



La cellule hôte ne doit pas modifier ou détruire l'ADN recombiné qui y a été introduit.

## 4. LES SONDÉS NUCLEOTIDIQUES

- Segment d'ADN **simple brin** utilisé pour repérer le fragment recherché par **hybridation moléculaire**.
- **Complémentaire et antiparallèle** au fragment recherché qui doit être aussi simple brin.

La sonde doit être repérable :

- Chaude (radioactive) dangereuse
- Froides (fluorescence, luminescence, coloration,,)