

ANNATUT'

Etude du génome

Etude du génome

UE11

[Année 2017-2018]



- ⇒ QCM issus des Tutorats, classés par chapitre
- ⇒ Correction détaillée



SOMMAIRE

1. Extraction des acides nucléiques	3
Correction : Extraction des acides nucléiques	4
2. PCR.....	5
Correction : PCR.....	6
3. Migration Electrophorétique	7
Correction : Migration Electrophorétique	9
4. Digestion Enzymatique	10
Correction : Digestion Enzymatique.....	11
5. Clonage Moléculaire	12
Correction : Clonage Moléculaire.....	13
6. Séquençage	14
Correction : Séquençage.....	15
7. Achondroplasie et autres pathologies.....	16
Correction : Achondroplasie et autres pathologies.....	17
8. Cartes de restriction	18
Correction : Cartes de restriction	20
9. PCR en temps réel	21
Correction : Protéines de fusion et PCR en temps réel.....	22
10. Séquençage Haut Débit et DPNI	23
Correction : Séquençage Haut Débit et DPNI	25

1. Extraction des Acides Nucléiques

2016 – 2017 (Pr. Paquis)

QCM 1 : A propos des différentes étapes de l'extraction de l'ADN, on trouve dans l'ordre :

- A) Lyse des GR, Prélèvement sous EDTA, Récupération des GB dans une solution de protéinase K, extraction au phénol-chloroforme
- B) Prélèvement sous EDTA, lyse des GB, récupération des GR dans une solution de protéinase K, extraction au phénol-chloroforme
- C) Prélèvement sous héparine, lyse des GR, récupération des GB dans une solution de protéinase K, extraction au phénol-chloroforme
- D) Prélèvement sous EDTA, lyse des GR, récupération des GB dans une solution de protéinase K, extraction au phénol-chloroforme
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Quel(s) serai(en)t le ou les constituant(s) du sang utilisables pour réaliser une extraction d'ADN à partir d'un prélèvement sanguin ?

- A) Le sérum
- B) Les globules rouges
- C) Les leucocytes
- D) Le plasma
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Au service de génétique de l'Archet, vous recevez un patient suspecté d'être atteint d'une maladie rare, vous entreprenez alors un diagnostic moléculaire de son génome à partir de prélèvement sanguin, donnez les vrais :

- A) Pour extraire son ADN génomique, vous allez préférentiellement utiliser des globules rouges
- B) Vous ferez un prélèvement sanguin sur héparine pour réaliser l'étude génétique
- C) Vous ferez un prélèvement sanguin sur EDTA pour réaliser l'étude génétique
- D) Il est parfois possible d'utiliser l'ARN pour faire une analyse génétique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Extraction des acides nucléiques**2016 – 2017 (Pr. Paquis)****QCM 1 : D**

- A) Faux : Cf B)
- B) Faux : les globules **rouges** sont **inutilisables** en l'absence de noyau, et sont donc éliminées. On utilise principalement des **globules blancs**
- C) Faux : L'héparine est un anticoagulant à proscrire lors d'une extraction d'ADN
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : C

- A) Faux : le sérum n'est que la phase liquide dépourvue de facteurs de coagulations ou de cellules de sang, il est donc dépourvu d'ADN
- B) Faux : **pas, d'ADN**, dans les globules rouges
- C) Vrai
- D) Faux : le plasma reste du sérum en présence de facteurs de coagulations, mais toujours sans cellule, donc sans ADN
- E) Faux

QCM 3 : CD

- A) Faux : des globules **blancs**
- B) Faux : jamais de l'héparine pour un prélèvement sanguin à destination d'analyse moléculaire
- C) Vrai
- D) Vrai : principalement des études d'expression
- E) Faux

2. PCR

2016 – 2017 (Pr. Paquis)

QCM 1 : A propos de l'amplification par PCR, donnez la ou les proposition(s) exacte(s)

- A) Il s'agit d'une technique ayant pour but d'obtenir de l'ADN en grande quantité provenant de l'ensemble du génome de la personne étudiée.
- B) Dotée d'une haute sensibilité et d'une haute spécificité, la technique de PCR est sujette à de forts risques de contamination
- C) Elle nécessite pour fonctionner la Taq Polymérase, une enzyme provoquant la coupure spécifique d'une séquence d'ADN simple brin
- D) Au bout de 3 cycles complets de PCR, on obtiendra en termes de quantité, 2^3 fois plus d'ADN qu'au départ
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : A propos de la technique PCR, donnez le ou les proposition(s) vrai(es) :

- A) Elle permet l'amplification spécifique d'une région d'ADN
- B) Pour que la réaction se fasse, il est nécessaire de mettre dans un tube : des amorces, des dNTPs, un Tampon contenant du $MgCl_2$, l'ADN du patient ainsi que la Taq Polymérase
- C) La Taq Polymérase est une enzyme d'origine bactérienne, résistant à l'acidité
- D) Il suffit de connaître les séquences de 18-20 nucléotides en amont ou en aval de la séquence à amplifier pour que la PCR se fasse.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : A propos des différents techniques d'analyses du génome, quel(les) sont la ou les propositions exacte(s) ?

- A) La technique de PCR – RFLP peut suffire à confirmer un diagnostic (RFLP étant la technique de fragmentation d'un produit par enzymes de restriction et étude par électrophorèse)
- B) Les mutations dans un gène donné sont étudiées par PCR – Séquençage, complété par un Clonage ou des études d'expression
- C) La recherche de mutation dans plusieurs gènes se fait par PCR en temps réel
- D) La recherche du nombre de copies d'un gène dans une portion du génome se fait par séquençage haut débit
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : PCR**2016 – 2017 (Pr. Paquis)****QCM 1 : BD**

- A) Faux : l'amplification par PCR concerne une **séquence définie** d'ADN, en moyenne d'environ 100 paires de bases
- B) Vrai : les analystes utilisent donc un circuit monodirectionnel dans l'enchaînement d'opérations
- C) Faux : la Taq Polymérase est, comme son nom l'indique, une ADN polymérase. La définition utilisée s'applique à une **endonucléase**.
- D) Vrai : pour rappel, au bout de n cycles de PCR, on obtient 2^n ADN
- E) Faux

QCM 2 : ABD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Faux : résistante à de fortes **températures** (grâce à cette caractéristique l'étape d'élongation peut se faire)
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : B

- A) Faux : toujours un séquençage
- B) Vrai
- C) Faux : par séquençage haut débit
- D) Faux : par PCR en temps réel
- E) Faux

3. Migration Electrophorétique

2016 – 2017 (Pr. Paquis)

QCM 1 : Dans l'électrophorèse sur gel, donnez le(s) proposition(s) vrai(es) :

- A) Les molécules d'ADN sont séparées en fonction de leur poids sur un gel d'agarose
- B) Le gel est parcouru par un courant électrique qui guide les molécules du pôle positif vers le pôle négatif
- C) La visualisation se fait sous une lumière ultraviolette, grâce à une coloration au bromure d'éthidium, peu toxique et utilisé très facilement
- D) Une électrophorèse doit comporter un marqueur de poids moléculaire et un témoin négatif qui permet de vérifier l'absence de contamination
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

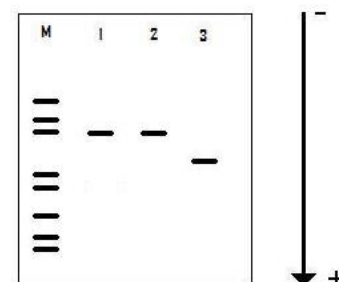
QCM 2 : Après migration électrophorétique, on visualise sur un gel d'agarose le produit d'amplification d'un patient sous UV après marquage au bromure d'éthidium.

M : marqueurs de poids moléculaire

3 : témoin négatif

2 : patient

1 : individu contrôle



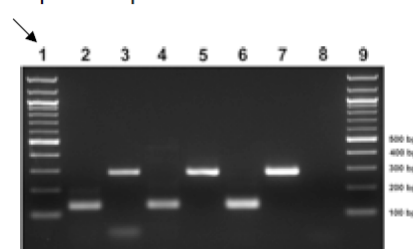
Quelles sont les propositions vrai(es) ?

- A) Le bromure d'éthidium permet d'obtenir une coloration rose des protéines
- B) Le fragment amplifié à partir de l'ADN du patient est plus léger que celui de l'individu contrôle
- C) Le fragment amplifié à partir de l'ADN du patient est aussi lourd que celui de l'individu contrôle
- D) La piste 3 permet de vérifier l'absence de contamination
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : A propos du gel ci-contre, le puits 1 correspondant au marqueur de poids moléculaire, le puit 8 au puits « témoin négatif » et les autres puits à divers patients. donnez le ou les proposition(s) vrai(es) :

- A) Le marqueur de poids moléculaire est un mélange de fragments d'ADN de poids moléculaire connus
- B) Le puits « témoin négatif » nous montre ici que l'échantillon est contaminé
- C) La taille du produit d'amplification déposé dans le puits 5 est inférieure à celle du produit d'amplification déposé dans le puits 6
- D) La taille du produit d'amplification déposé dans le puits 5 est supérieure à celle du produit d'amplification déposé dans le puits 6
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Marqueur de poids moléculaire



QCM 4 : Un neurologue du service de Neurologie de Pasteur 2 vous envoie plusieurs patients suspectés d'être atteint d'une maladie génétique autosomique dominante rare. Leur ADN est extrait et soumis à une amplification par PCR. Les séquences obtenues sont digérées par une enzymes de restriction, donnant des fragments séparés par une migration par électrophorèse sur gel acrylamide. Que pouvez déduire du résultat suivant ?

M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : Patient 1

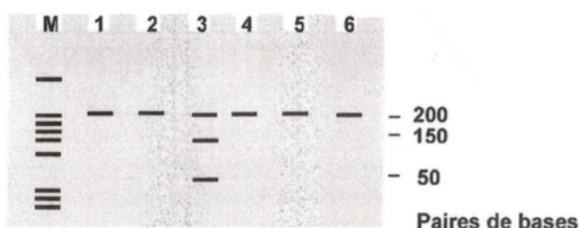
Piste 2 : Patient 2

Piste 3 : Patient 3

Piste 4 : Patient 4

Piste 5 : Patient 5

Piste 6 : Témoin négatif



- A) Pour visualiser ce résultat, il est nécessaire d'utiliser un colorant d'ADN, ici du bromure d'éthidium sous lumière UV
- B) Ce résultat montre que le patient 1 n'est pas atteint par la mutation
- C) Le patient 3 est atteint de façon certaine de la mutation à l'état hétérozygote
- D) Le patient 3 est atteint de façon certaine de la mutation à l'état homozygote
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Migration Électrophorétique**2016 – 2017 (Pr. Paquis)****QCM 1 : AD**

- A) Vrai
- B) Faux : les molécules sont dirigées du pôle négatif au pôle positif. Souvenez-vous que cathode et anode sont inversés en polarité dans une électrophorèse
- C) Faux : le bromure d'éthidium est toxique, et a besoin d'une protection spéciale lors de la manipulation
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : AC

- A) Vrai
- B) Faux : cf C)
- C) Vrai
- D) Faux
- E) Faux

QCM 3 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : on ne voit aucune contamination
- C) Faux : sa taille est plus élevée, il descend donc plus bas dans l'électrophorèse du fait de son poids
- D) Vrai : il migre moins loin
- E) Faux

QCM 4 : A

- A) Vrai
- B) Faux : une contamination affichée par la présence d'une barre dans la colonne de témoin négatif, invalide l'ensemble du résultat d'électrophorèse
- C) Faux : cf B
- D) Faux : cf B
- E) Faux

4. Digestion Enzymatique

2016 – 2017 (Pr. Paquis)

QCM 1 : A propos des enzymes de restrictions de types II, donnez le ou les proposition(s) vrai(es) :

- A) Elles reconnaissent et coupent de l'ADN simple brin
- B) On peut les utiliser pour détecter une mutation ponctuelle
- C) On dit qu'elles coupent au niveau d'une séquence palindromique
- D) Elles possèdent une activité exonucléasique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : À propos des différentes enzymes utilisées en biologie moléculaire, donnez la ou les proposition(s) exacte(s) :

- A) Une exonucléase coupe les nucléotides situés aux extrémités d'un fragment d'ADN
- B) Une phosphatase catalyse la formation d'une liaison phosphodiester entre un 3'-OH et un 5'-Phosphate
- C) Une enzyme de restriction coupe de l'ADN double brin
- D) Une ADN polymérase synthétise à partir d'une amorce un brin complémentaire d'ADN simple brin
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Digestion Enzymatique**2016 – 2017 (Pr. Paquis)**

QCM 1 : BC

- A) Faux : elles coupent de l'ADN double brin
- B) Vrai
- C) Vrai : la coupure se fait au niveau d'une séquence connue, qui se répète de façon identique entre les deux brins d'ADN
- D) Faux : une activité **endonucléasique ++**
- E) Faux

QCM 2 : ACD

- A) Vrai
- B) Faux : C'est une **ligase**
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

5. Clonage Moléculaire

2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : A propos de la préparation de l'ADN recombinant, donnez le(s) proposition(s) vrai(es) :

- A) Le vecteur est un ADN circulaire monobrin qui se réplique de manière autonome par rapport à la cellule
- B) Le plasmide contient une origine de réplication qui permet de cette réplication autonome, ainsi qu'un gène de sélection
- C) La même enzyme de restriction doit rogner le vecteur et l'insert
- D) La ligation de ces derniers se fait grâce à la T4 DNA Ligase, qui forme une liaison phosphodiester
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : A propos de la sélection des clones bactériens, donnez le(s) proposition(s) vrai(es) :

- A) Etalée sur un gel rempli d'antibiotique, le seul espoir de survie de la bactérie est d'avoir intégré un ADN recombinant
- B) L'insert s'insère à proximité du gène de la β -Galactosidase
- C) La présence de l'insert aboutit à des colonies bleues
- D) La présence de l'insert aboutit à des colonies blanches
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : A propos du clonage d'expression, donnez le(s) proposition(s) vrai(es) :

- A) Si l'on veut connaître la façon dont le gène est exprimé, il faut bien marquer la protéine pour pouvoir l'observer
- B) Ce marquage peut être réalisé grâce à des anticorps ou des étiquettes
- C) Une étiquette est une répétition de petites séquences déterminées, greffées en C-Ter ou N-ter
- D) Le clonage d'expression passe par l'étape de transformation pour intégrer les ADN recombinants dans la cellule
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : A propos du clonage moléculaire, donnez la ou les proposition(s) exacte(s)

- A) Un vecteur est un ADN circulaire double brin dont la réplication est dépendante des appareils de réplifications de la bactérie
- B) Lors de l'étape de ligation entre le vecteur et l'insert, il est possible que le vecteur se referme sans ajout de l'insert. Une étape de phosphorylation est alors nécessaire au préalable pour contrer ce phénomène
- C) L'étape d'amplification sous antibiotiques va permettre de séparer les bactéries ayant intégrés l'ADN recombinant de celles ne l'ayant pas intégrées
- D) La sélection blanc / bleu va permettre de différencier les colonies de bactéries ayant intégrés l'insert de celles ne l'ayant pas intégré
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Concernant l'étude d'expression des gènes, quel(les) sont la ou les proposition(s) exactes ?

- A) Un vecteur d'expression est composé en tout et pour tout d'un polylinker, d'une région promotrice eucaryote, d'une origine de réplication eucaryote et d'un gène de sélection eucaryote (typiquement d'un gène de résistance à la néomycine)
- B) Son devenir est une transformation dans une cellule eucaryote afin de pouvoir étudier l'expression d'une protéine intégrée au vecteur
- C) Pour pouvoir suivre son expression, la protéine, dite de fusion, doit être marquée par une étiquette attachée à son extrémité N-terminal ou C-terminal, protéine fluorescente ou petit peptide qui sera reconnu par des anticorps
- D) Une étiquette attachée à l'extrémité N-terminal devra être pourvu d'un codon stop pour suppléer à celui initialement présent au moment de la traduction, et une étiquette attachée à l'extrémité C-terminal devra être pourvu d'une méthionine (pour la même raison)

Correction : Clonage Moléculaire**2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)****QCM 1 : BCD**

- A) Faux : le vecteur est un ADN circulaire double brin
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : elle s'insère à l'intérieur de la séquence du gène de la β -Galactosidase
- C) Faux : cf D)
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : ABC

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : l'intégration d'ADN dans une cellule eucaryote est une étape appelée transfection, et non transformation
- E) Faux

QCM 4 : CD

- A) Faux : la réplication du vecteur se fait de manière **autonome**, grâce à une origine de réplication intégrée à sa séquence
- B) Faux : c'est une étape de **déphosphorylation**, il faut en effet empêcher la liaison naturelle entre une extrémité P' libre et une extrémité OH libre
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 5 : C

- A) Faux : un vecteur d'expression est également composé d'une origine de réplication et d'un gène de sélection procaryote, car le vecteur d'expression sera cloné dans un premier temps au sein d'une bactérie
- B) Faux : l'incorporation d'un vecteur d'expression dans une cellule eucaryote est appelé une **transfection**. La transformation concerne l'incorporation dans une bactérie
- C) Vrai
- D) Faux : le codon stop est à l'extrémité **C-terminal**, et la méthionine à l'extrémité **N-terminal**. Le reste de la proposition est vrai
- E) Faux

6. Séquençage

2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)

QCM 4 : A propos du séquençage, donnez le(s) proposition(s) vrai(es) :

- A) La méthode de référence, dite de Sanger, a comme particularité d'utiliser des di-désoxyribonucléotides
- B) Elle reprends les mêmes étapes (à peu de choses près) que celles de la PCR, et permet de multiplier la séquence d'ADN à étudier en intégrant au hasard un désoxyribonucléotide ou un di-désoxyribonucléotide
- C) Le di-désoxyribonucléotide est fluorescent et permet d'interrompre la synthèse en cours
- D) Les multiples séquences d'ADN sont réparties selon leur taille par électrophorèse afin d'obtenir la séquence complète
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : A propos du séquençage, donnez la ou les proposition(s) exacte(s)

- A) Le séquençage de l'ADN est la détermination de la succession des nucléotides qui le composent
- B) Il est constitué de 3 étapes successives : dénaturation, hybridation, élongation
- C) La méthode de référence est la méthode de Sanger, comprenant 4 réactions indépendantes (avec entre autre 4dNTPs et 1 ddNTP différent pour chaque réaction).
- D) Dans la méthode automatisée, il n'y a plus qu'une seule réaction au lieu d'avoir 4 tubes différents, ainsi le séquençage sera beaucoup plus rapide.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Séquençage**2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)****QCM 4 : ABCD**

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 4 : ABCD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

7. Achondroplasie et autres pathologies

2016 – 2017 (Pr. Paquis)

QCM 1 : A propos de l'achondroplasie, donnez le(s) proposition(s) vrai(es) :

- A) Le gène responsable, FGFR3, code pour un récepteur de croissance ostéoblastique, il régule la formation osseuse
- B) Il existe deux variantes de la mutation en deux endroits du gène, qui remplacent leur guanine par une adénine ou une cytosine
- C) Cela produit des mutations non-sens, qui sont à l'origine des fortes perturbations subies par la cellule
- D) On vérifiera le diagnostic d'achondroplasie grâce à un séquençage du gène après digestion enzymatique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Concernant le syndrome de Wolfram :

- A) C'est une pathologie à transmission autosomique récessive
- B) Son diagnostic repose sur une étude des ARN messagers grâce à une étape de transcriptase inverse
- C) L'extraction des ARN messagers nécessite l'utilisation d'un mélange de phénol-chloroforme basique pour stabiliser les ARN
- D) L'origine de la mutation est un variant d'épissage, où à l'expression du gène, un des exons devient nettement plus long dans la version mutée que dans la version non mutée
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Une sage-femme vous sollicite afin de réaliser un diagnostic prénatal moléculaire car elle pense avoir détectée une achondroplasie chez un fœtus, suite à un signe d'appel échographique « fémurs courts »

- A) Un diagnostic moléculaire est inutile, un fœtus présentant un signe d'appel « fémur court » sera forcément atteint d'achondroplasie
- B) Finalement, vous vous dites que le fœtus n'est pas atteint d'achondroplasie étant donné que ses 2 parents sont de tailles normales
- C) Que nenni l'achondroplasie peut très bien être due à une mutation de novo
- D) Vous prévenez les parents qu'en cas d'achondroplasie avérée, l'enfant sera atteint de retard mental
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : L'achondroplasie constitue la plus fréquente des chondrodysplasies, et touche 1 naissance sur 15000. Donnez la ou les proposition(s) exacte(s) concernant cette maladie :

- A) Elle touche le gène FGFR3, à l'origine d'un facteur de croissance fibroblastique qui s'exprime dans les chondrocytes et régule la formation osseuse
- B) C'est une maladie autosomique dominante, et 10% des enfants atteints (dont tous possèdent une intelligence normale) naissent de parents sains.
- C) Deux variant de mutations existent en position 1138, correspondant au 380^e acide aminé, l'un remplaçant la guanine initiale par une adénosine, l'autre remplaçant la guanine initiale par une cytosine. Ces deux variant aboutissent à deux acides aminés différents
- D) Dans l'analyse génomique, les variant sont étudiés en partie par extraction d'ADN, amplification par PCR d'un fragment de 164 paires de bases encadrant la position 1138, et fragmentation des produits PCR par deux enzymes de restrictions : Bfml pour la mutation 1138 G > C et HpaII pour la mutation G > A
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Achondroplasie et autres pathologies**2016 – 2017 (Pr. Paquis)****QCM 1 : D**

- A) Faux : il s'agit d'un récepteur de croissance chondroblastique
- B) Faux : les deux variantes de la mutation se situent au même endroit du gène
- C) Faux : les deux changements de bases entraînent une mutation faux-sens
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : ABD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Faux : le phénol-chloroforme dans l'extraction des ARN messagers est **acide**
- D) Vrai : l'exon 6, pour la culture G
- E) Faux

QCM 3 : C

- A) Faux : le signe échographique « fémurs courts » est justement un signe **d'appel** qui demande une confirmation par analyse génomique
- B) Faux : 90% des enfants achondroplasiques naissent de parents normaux
- C) Vrai
- D) Faux : l'intelligence est **normale** +++
- E) Faux

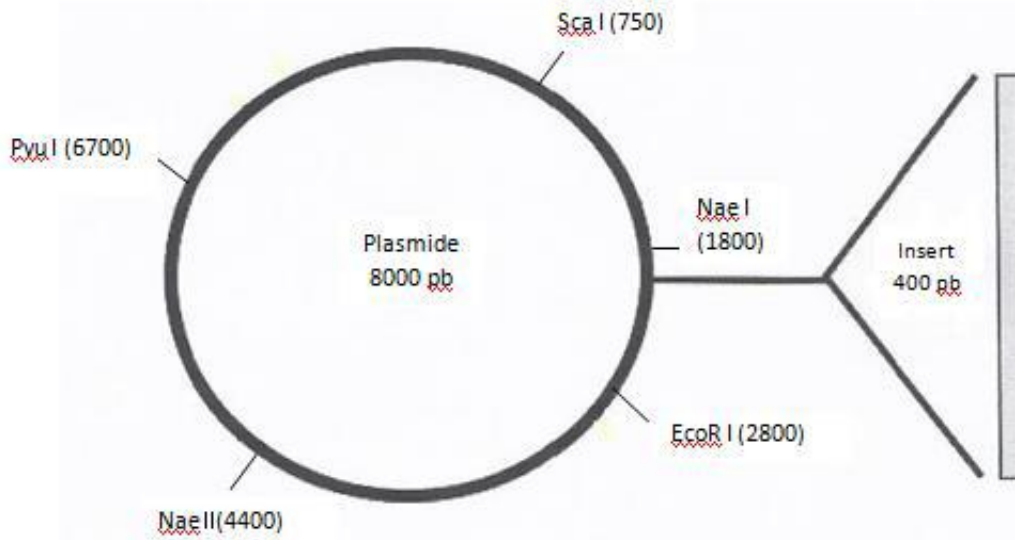
QCM 4 : E

- A) Faux : le gène FGFR 3 code pour le **récepteur** du facteur de croissance, et non pour le facteur lui-même
- B) Faux : **90% des enfants atteints proviennent de parents sains**. C'est une mutation de novo
- C) Faux : que ce soit l'une ou l'autre des mutations, elles aboutiront à la **même modification d'acide aminé**, soit une Glycine en Arginine
- D) Faux : la proposition est vraie, sauf que Bfml est dédiée à la mutation 1138 **G > A** et la HpaII à la mutation **G > C**
- E) Faux

8. Cartes de restriction

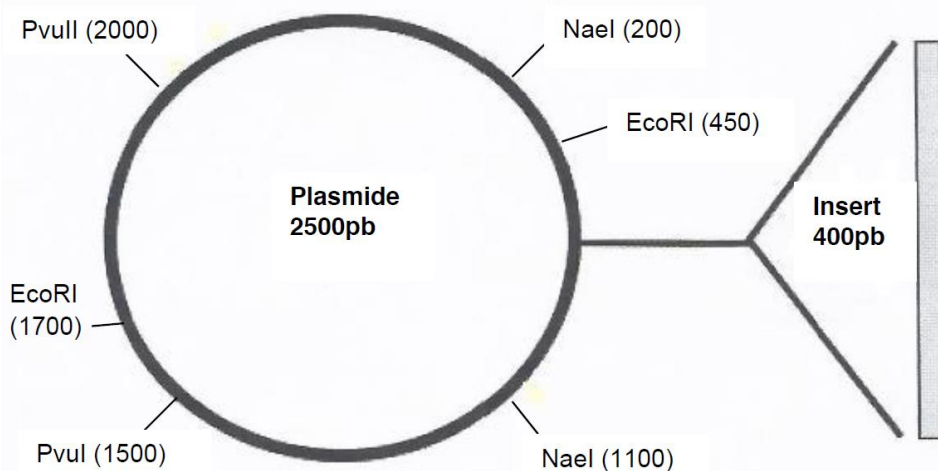
2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Après digestion enzymatique avec les enzymes *Nae I* et *EcoR I*, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ?



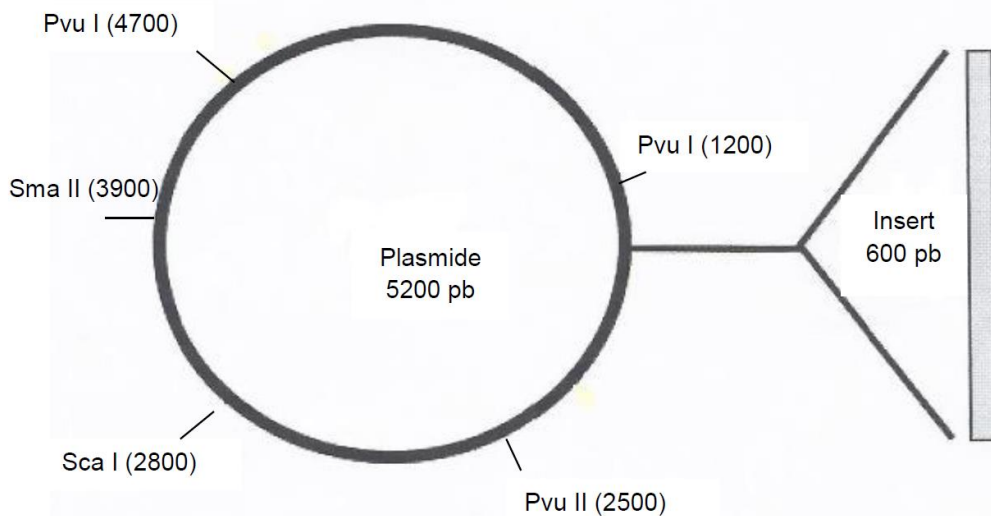
- A) Plasmide sans insert : 1000pb + 7000pb
- B) Plasmide sans insert : 2800pb + 6200pb
- C) Plasmide avec insert : 1000pb + 7400pb
- D) Plasmide avec insert : 1400pb + 6600pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Après digestion enzymatique du plasmide suivant grâce aux enzymes de digestion *Nae I* et *PvuI*, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ?



- A) Plasmide sans insert : 900 pb + 1600 pb
- B) Plasmide sans insert : 1200 pb + 900 pb + 400 pb
- C) Plasmide avec insert : 1300 pb + 1600 pb
- D) Plasmide avec insert : 400 pb + 1300 pb + 1200 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

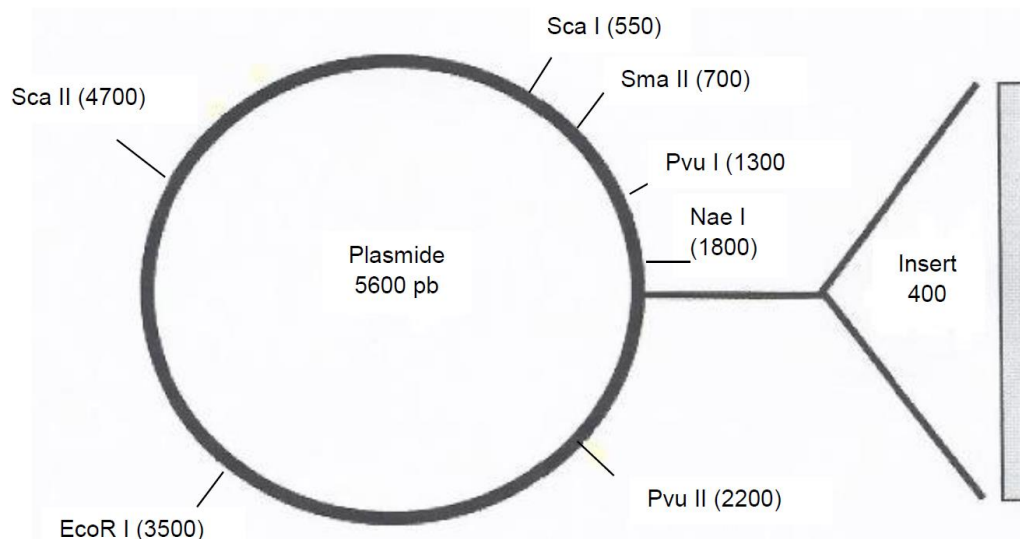
QCM 3 : Vous réalisez une carte de restriction pour différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.



Après digestion enzymatique avec les enzymes Pvu I et Pvu II, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donner la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Plasmide sans insert : 1700 pb + 1900 pb + 2200 pb
- B) Plasmide sans insert : 1700 pb + 1500 pb + 1900 pb
- C) Plasmide avec insert : 1700 pb + 1300 pb + 2200 pb
- D) Plasmide avec insert : 2200 pb + 1700 pb + 1900 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

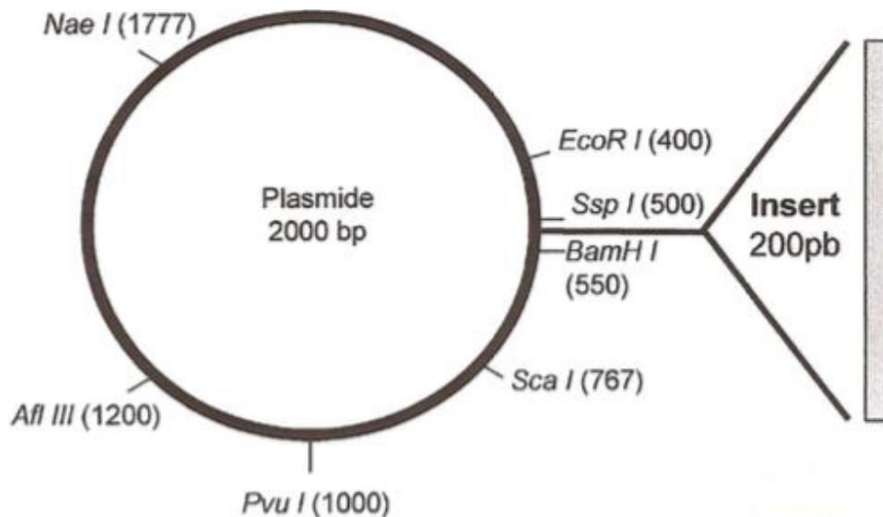
QCM 4 : Vous réalisez une carte de restriction pour différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.



Après digestion enzymatique avec les enzymes Sma II et EcoR I, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donner la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Plasmide sans insert : 3500 pb + 700 pb
- B) Plasmide sans insert : 2800 pb + 2800 pb
- C) Plasmide avec insert : 1900 pb + 1300 pb + 2800 pb
- D) Plasmide avec insert : 1200 pb + 4800 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous réalisez une carte de restriction pour différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.



Après digestion enzymatique par les enzymes *Ssp I* et *Afl III*, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ?

- A) Plasmide sans insert : 800 pb + 1200 pb
- B) Plasmide sans insert : 577 pb + 700 pb + 723 pb
- C) Plasmide avec insert : 1300 pb + 900 pb
- D) Plasmide avec insert : 2000 pb + 200 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Cartes de restriction**2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)****QCM 1 : A**

- A) Vrai
B) Faux : cette combinaison représente la digestion du plasmide par l'enzyme EcoR I uniquement
C) Faux : avec ces enzymes de restriction, cette combinaison place l'insert dans le mauvais fragment d'ADN
D) Faux : le poids total de l'ADN avec l'insert devrait représenter 8400 pb, ici nous n'en n'avons que 8000
E) Faux

QCM 2 : BD

- A) Faux : cette proposition ne comprend pas la coupure du fragment de 1600 pb par PvuI
B) Vrai
C) Faux : encore une fois, cette proposition ne comprend pas la coupure du fragment de 1600 pb par PvuI
D) Vrai : 900 pbs entre NaeI (200) – NaeI(1100) + 400 pbs de l'insert / 400 pbs de l'intervalle NaeI (1100) et PvuI(1500) / 1200 pbs entre PvuI(1500) et NaeI (200)
E) Faux

QCM 3 : D

Les fragments obtenus du plasmide après sa coupure par les enzymes Pvu I et Pvu II sont des fragments de :

- 1700 pb : Pvu I (4700) – Pvu I (1200)
- 1300 pb sans insert : Pvu I (1200) - Pvu II (2500) / 1900 pb avec insert
- 2200 pb : Pvu II (2500) – Pvu I (4700)

Total : 5200 pb sans insert / 5900 avec insert

QCM 4 : B

- A) Faux : les chiffres proposés correspondent aux positions des sites de coupure des enzymes de restriction, pas à la taille des fragments
B) Vrai
C) Faux : Coupure par Sma II, Pvu II et EcoR I
D) Faux : Coupure par Sca II et EcoR I
E) Faux

QCM 5 : C

- A) Faux : coupure par EcoR I et Afl III
B) Faux : coupure par Ssp I, Afl III et Nae I
C) Vrai : les combinaisons correspondantes sont **700 pb + 1300 pb** sans insert et **900 + 1300 pb** avec insert
D) Faux : absence de coupure enzymatique
E) Faux

9. PCR Temps réel

2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : A propos du fonctionnement de la PCR en temps réel :

- A) Les étapes d'une PCR en temps réel sont rigoureusement identiques à celle d'une PCR classique
- B) Il s'agit d'une technique dite qualitative, où la mesure de la fluorescence émise par l'ADN se fait en temps réel
- C) Il est nécessaire d'attendre un certain nombre de cycle avant que le taux de fluorescence ne devienne significatif
- D) Le cycle qui définit l'apparition de la fluorescence, appelé « cycle seuil Ct » est d'apparition proportionnelle à la quantité d'ADN disponible au départ : plus il y en a, plus il apparaît tard.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : A propos des composants utilisés durant la PCR en temps réel :

- A) La SYBR Green s'intercale dans l'ADN à n'importe quel moment durant la PCR, dès l'apparition d'ADN double brin
- B) Cette incorporation est ainsi proportionnelle en permanence à la quantité d'ADN double brin synthétisée, et permet un suivi en temps réel à chaque fin d'élongation
- C) Une sonde TaqMan est composée d'un quencher, d'un fluorochrome, et d'une séquence simple brin spécifique à une portion de la séquence d'ADN à étudier
- D) L'hybridation de cette sonde durant l'élongation permet le suivi de la quantité d'ADN par fluorescence : le fluorochrome reste ainsi fixé aux séquences d'ADN qui se multiplient
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : PCR Temps réel**2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)****QCM 1 : AC**

- A) Vrai
- B) Faux : piège facile, certes, mais il est important de retenir que c'est une technique **quantitative**
- C) Vrai
- D) Faux : au contraire, plus il y a d'ADN disponible au départ, plus le cycle seuil apparaît tôt
- E) Faux

QCM 2 : ABC

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : le principe d'une sonde Taqman est justement la **libération du fluorochrome**, dont la lumière est masquée par le quencher, lors du passage de l'ADN polymérase. C'est donc la quantité de fluorochrome libre dans le milieu préparatoire qui détermine la quantité d'ADN générée par la PCR
- E) Faux

10. Séquençage Haut Débit et DPNI

2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Séquençage haut débit

- A) Il constitue, par définition, le séquençage massif en parallèle de molécules d'ADN individuellement séparées et amplifiées sous forme de clones ou de molécules uniques
- B) Quatre sociétés ont développé cette technique avec des méthodes différentes
- C) Le point commun entre ces différentes méthodes constitue, outre l'extraction d'ADN et sa fragmentation, l'utilisation d'adaptateurs et de code-barres placés sur les fragments d'ADN
- D) La société Life technologie utilise la technique Ion Torrent précédée d'une PCR en émulsion sur billes d'agarose
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : A propos de l'amplification clonale en émulsion

- A) Les gouttelettes d'huile (qui justifient le terme d'émulsion) constituent des microréacteurs dans lesquelles se déroulent l'amplification
- B) Dans un microréacteur se trouvent une sphère, plusieurs fragments d'ADN provenant de patients différents, une ADN polymérase, des primers, des dNTP et un tampon
- C) Les primers sont des séquences complémentaires aux adaptateurs présents sur l'ADN, et l'un d'eux est biotinylé
- D) L'amplification se fait selon les règles classiques de la PCR, en suivant les mêmes étapes et températures pendant un certain nombre de cycles
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Préparation des échantillons

- A) L'ADN double brin est fragmenté par des endonucléases en fragments de 200 à 400 paires de bases selon des sites de coupures prédéfinis, à séquence palindromique
- B) On ajoute à ces fragments d'ADN, deux adaptateurs identiques pour chaque fragment et un Barre Code spécifique à un patient précis
- C) Ces adaptateurs sont appelés « P1 », rattaché à l'extrémité 3' du brin, et « A », rattaché à l'extrémité 5' du brin
- D) Sont rajoutés dans la solution des ligases pour lier les adaptateurs et une ADN polymérase
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Préparation des échantillons partie 2

- A) Les fragments d'ADN que l'on souhaite étudier sont capturés par des sondes d'ARN simple brin biotinylées qui s'hybrident sur des régions introniques
- B) La purification des fragments d'intérêt se fait par centrifugation, les molécules de biotine rendant les fragments capturés plus lourds que les fragments non capturés
- C) Les sondes de capture sont dégradées grâce à une DNase
- D) Zork, votre regretté tuteur d'embrYOLogie, se vante tous les jours d'être un magnifique blond vénitien (comptez faux)
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : A propos du séquençage des sphères

- A) Le séquençage haut débit utilise un support métallique, aussi appelé puce, qui sépare les sphères
- B) Une même puce est composée de 1 à 11 millions de puits, qui peuvent chacun accueillir 2 à 3 sphères
- C) Durant le séquençage, les ddNTP sont injectés de façon cyclique, dans un ordre prédéfini
- D) Chaque fois qu'un ddNTP est utilisé, un H⁺ est rejeté dans la solution tampon, ce qui provoque une diminution du pH détectable par un pH mètre
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 6 : A propos du diagnostic prénatal non invasif (DPNI), donnez la ou les propositions vraies :

- A) Le DPNI permet d'éviter les risques de fausses couches liés au prélèvement invasif du diagnostic prénatal
- B) La méthode diagnostique associée au DPNI est le caryotype, cela permet de repérer facilement les chromosomes surnuméraires
- C) Elle s'applique à la plupart des trisomies autosomiques et gonosomiques
- D) On utilise dans le DPNI de l'ADN fœtal circulant que l'on peut prélever par simple prélèvement sanguin dans le sang maternel
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Concernant le séquençage haut débit (NGS), donnez la ou les proposition(s) exacte(s)

- A) Le séquençage haut débit est utilisé pour rechercher des mutations dans plusieurs gènes (diagnostic de pathologies multifactorielles)
- B) Une réaction de séquençage NGS permet de séquencer entre 400 et 800 paires de bases
- C) Grâce au séquençage haut débit, on ne met plus que quelques jours pour séquencer un génome entier
- D) Dans le NGS, la molécule d'ADN étudiée est fragmentée, ce qui permet de rendre le séquençage plus rapide
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 8 : Concernant le diagnostic prénatal non invasif (DPNI), donnez la ou les proposition(s) exacte(s) :

- A) Le prélèvement non invasif se fait par amniocentèse
- B) L'ADN fœtal circulant est récupéré dans le sang maternel
- C) La quantité d'ADN fœtal circulant augmente pendant la grossesse mais son apparition dans la circulation maternelle se fait tardivement
- D) C'est une analyse qualitative : on recherche une variation nucléotidique dans l'ADN fœtal
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 9 : A propos de l'amplification clonale par PCR en émulsion dans le séquençage haut débit. Le fragment d'ADN initialement double brin au début de l'amplification vient d'être dénaturé par la chaleur.

Donnez la ou les propositions vraies :

- A) Le primer présent dans le microréacteur d'émulsion, complémentaire à l'adaptateur P1 présente à l'extrémité 5' du fragment d'ADN d'intérêt, présente une séquence supplémentaire à sa propre extrémité 5'. Cette séquence lui permettra dans le futur de s'hybrider à la sphère
- B) La molécule de biotine est couplée à un primer initialement présent dans le microréacteur d'émulsion, complémentaire à l'adaptateur « A » présent sur le fragment d'ADN d'intérêt
- C) La première hybridation du fragment d'ADN d'intérêt sur la sphère du réacteur se fera par l'extrémité 5' de ce fragment d'ADN, complémentaire au primer présent sur la sphère
- D) La molécule de biotine facilitera la purification à l'aide de billes magnétiques recouvertes de streptavidine
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Séquençage Haut Débit et DPNI**2016 – 2017 (Pr. Bannwarth)****QCM 1 : AC**

- A) Vrai
- B) Faux : Ne pas retenir le nom de chaque société, mais retenir qu'il y en a **trois**
- C) Vrai
- D) Faux : Life Technology est la seule société dont il faut retenir qu'elle utilise des **sphères** dans sa PCR en émulsion
- E) Faux

QCM 2 : ACD

- A) Vrai
- B) Faux : dans la sphère n'est placé **qu'un seul** fragment d'ADN d'intérêt, provenant d'un seul patient
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux :

QCM 3 : BD

- A) Faux : les coupures dans le séquençage haut débit se font de manière **aléatoire**
- B) Vrai
- C) Faux : P1 est rattaché à l'extrémité **5'** du fragment, et A est rattaché à l'extrémité **3'** du fragment
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 4 : E

- A) Faux : les sondes de capture s'hybrident sur des régions **exoniques**
- B) Faux : la biotine permet une association avec des **billes magnétisées** recouvertes de streptavidine, qui permettent une purification par **aimantation** et non par centrifugation
- C) Faux : les sondes de capture sont constituées d'ARN, il faut donc des **RNAses**
- D) Faux : Zork illumine à jamais la BU de Pasteur par sa rousseur incandescente
- E) Vrai

QCM 5 : A

- A) Vrai
- B) Faux : chaque puits n'accueille **qu'une seule sphère**
- C) Faux : le séquençage haut débit **n'utilise pas de ddNTP**, uniquement des dNTP
- D) Faux : cf C)
- E) Faux

QCM 6 : AD

- A) Vrai : cf D)
- B) Faux : la méthode diagnostic associée est le **séquençage haut débit**
- C) Faux : les seules trisomies que l'on peut rechercher (du moins dans le cadre du cours) avec le DPNI sont la trisomie 13, 18 et 21
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 7 : ACD

- A) Vrai
- B) Faux : Entre **1 Mb** (1 000 000 pb) et **100 Mb** (100 000 000 pb)
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 8 : B

- A) Faux : Il se fait par **prise de sang**
- B) Vrai
- C) Faux : Son apparition est **précoce**
- D) Faux : C'est une analyse **quantitative ++**, on recherche un **chromosome surnuméraire ++**
- E) Faux

QCM 9 : ACD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Faux : cette première hybridation se fait par l'extrémité **3'** du fragment d'ADN étudié. L'extrémité 5' est occupé par le primer couplé à la molécule de biotine
- D) Vrai : l'utilisation d'un aimant permettra de placer à part les fragments d'ADN pourvus d'une biotine
- E) Faux : ce chapitre n'est pas simple à comprendre, n'hésitez pas à revoir plusieurs fois la page 7 de la ronéo 3 afin de mieux visualiser ce processus