

1/	D	2/	AC	3/	E	4/	B	5/	BCD
6/	C	7/	AC	8/	ABC				

QCM 1 : D

A) Faux : avant toute chose on regarde les deux pistes témoin négatif qui n'ont aucune trace de migration : il n'y a donc pas eut de contamination et on peut interpréter le gel. Il n'est a priori pas possible que le variant d'épissage soit homozygote entre les exons 3 et 4 pour plusieurs raisons, même si cet item peut prêter à confusion, notamment à cause du fait qu'on ne connaît pas la taille normale des fragments. Déjà, on parle dans l'énoncé d'UN variant d'épissage, il est flagrant que la jonction exon 7 – exon 8 en porte un du fait des deux produits de migration de différente taille, on en est même sûrs ! Il paraît donc improbable qu'il y est deux sites cryptiques d'épissage dans le même ADN recombinant, d'autant plus que le cas du variant d'épissage est particulier (d'habitude le syndrome est lié à deux mutations exoniques ponctuelles). En cours vous avez uniquement vu le cas où il n'y a qu'un variant d'épissage, à l'état hétérozygote donc. Ce QCM faisant clairement allusion à cet exemple du cours, il est beaucoup plus logique de conclure à une absence de variant d'épissage dans la jonction exon 3 – exon 4 !

B) Faux : cf. A)

C) Faux : cf. D)

D) Vrai : les deux produits de migration en piste 4 montrent une hétérozygotie du gène pour l'individu. La piste 4 est dédiée à la stratégie de PCR 2, donc l'amplification de la jonction exon 7/exon 8 génère deux amplicons de poids différents ! On peut aller plus loin en disant que le variant d'épissage correspond au fragment du haut, celui qui a migré le moins loin car il est plus lourd, plus long à cause de la portion intronique qui a été traduite à cause du site cryptique d'épissage !

Il y a donc un variant d'épissage à l'état hétérozygote entre l'exon 7 et l'exon 8 !

E) Faux

QCM 2 : AC

A) Vrai

B) Faux : La PCR repose sur 3 étapes successives : dénaturation hybridation et élongation

C) Vrai : d'où la nécessité d'utiliser un circuit monodirectionnel et de faire systématiquement un blanc lorsqu'on vérifie sur gel la taille de nos produits d'amplification, afin de s'assurer qu'il n'y a pas eu de contamination !

D) Faux : on n'utilise pas d'enzymes de restriction !

E) Faux

QCM 3 : E

A) Faux

B) Faux

C) Faux

D) Faux

E) Vrai : seuls SmaI et BamHI pouvaient couper la séquence !

QCM 4 : B

A) Faux : les globules rouges ne contiennent pas d'ADN

B) Vrai

C) Faux : une PCR-séquençage ne peut pas se faire à partir d'un prélèvement plasmatique car il y a trop peu d'ADN pour pouvoir en faire quoi que ce soit et une analyse quantitative n'a aucun intérêt ici on ne cherche pas à faire un DPNI ! De plus on recherche une mutation dans un gène ce qui correspondrait au cas d'une maladie monogénique comme le syndrome de Wolfram et la PCR-séquençage est la seule méthode indiquée en première intention contrairement au NGS réservé aux pathologies impliquant plusieurs gènes.

D) Faux : on ne séquence toujours que les régions codantes car on ne sait pas interpréter un variant situé dans une région non codante !

E) Faux

QCM 5 : BCD

A) Faux : on n'utilise des endonucléases non spécifiques pour fragmenter l'ADN qui n'ont rien à voir avec des enzymes de restriction !

B) Vrai : c'est ce qui nous permettra d'utiliser un seul couple d'amorces pour tous nos fragments !

C) Vrai : grâce aux code-barres spécifiques d'un seul patient permettant d'attribuer à chacun une séquence d'ADN !

D) Vrai

E) Faux

QCM 6 : C

A) Faux : la transmission de l'achondroplasie est autosomique dominante mais le père a ici une taille normale et n'a donc pas pu transmettre la maladie comme le laisse suggérer l'item. Ce cas clinique correspond à une mutation de novo, les antécédents de nanismes n'entrent donc pas en compte.

B) Faux : le diamètre bipariétal correspond à la distance séparant les deux os pariétaux, ce qui reflète la largeur du crâne. On sait que le fœtus est atteint de macrocéphalie, ce qui indique un diamètre bipariétal augmenté. De plus, le signe d'appel échographique est dit des « fémurs courts », le fémur est un os long qui en cas d'achondroplasie est fortement réduit.

Les signes radiopédiatriques concordants avec un diagnostic d'achondroplasie sont :

- la taille du fémur < 5^{ème} percentile (~3^{ème} percentile)

- le diamètre bipariétal > 90^{ème} (~95^{ème} percentile)

Ces données n'étaient pas présentes dans le cours l'année où ce QCM est tombé au concours, mais il était faisable avec un peu de réflexion même si la formulation était inhabituelle. Maintenant que vous avez les normes vous n'avez plus d'excuse pour faire juste si jamais ce QCM devait retomber !

C) Vrai : cf. B)

D) Faux : l'immobilisme fœtal est là pour vous perturber il n'en a jamais été question dans le cours !

E) Faux

QCM 7 : AC

A) Vrai

B) Faux : la fluorescence générée par PCR en temps réel est mesurée après chaque cycle après l'étape d'élongation, c'est lors d'une PCR classique que les produits d'amplification seront vérifiés sur un gel d'agarose après 40 cycles !

C) Vrai

D) Faux : la PCR en temps réel se déroule à des températures cycliques beaucoup plus élevées : dénaturation à 95°C, hybridation à 55°C et élongation à 60°C !

E) Faux

QCM 8 : ABC

A) Vrai : **Plasmide sans insert, digestion par XhoI et EcoRI** : XhoI coupe à 200 et 600 pb, et EcoRI coupe à 400 pb. On obtient donc **deux fragments de 200 pb** !

Le reste du plasmide qui fait au total 3000 pb fait donc $3000 - (200 + 200) = 3000 - 400 = \mathbf{2600 \text{ pb}}$

On obtient donc bien des fragments à 200 et 2600 pb, ce qui n'était pas précisé dans la formulation de l'item qui était vague exprès pour vous piéger, c'est qu'on aura deux fragments de 200 pb qui seront superposés à l'électrophorèse, on ne verra donc qu'un seul produit de migration comme s'il n'y avait qu'un seul fragment mais il y en a bien deux !

B) Vrai : **Plasmide avec insert muté, digestion par XhoI et EcoRI** : XhoI coupe à 200 et 600 pb ; et EcoRI coupe à 400 pb et clive en plus l'insert en deux fragments de 50 pb au niveau de la position 300.

$$600 - 400 = 200$$

$$400 - 200 + 100 = 300$$

L'insert se retrouve donc exactement au milieu de ce fragment de 300 pb car le fragment est situé entre les positions 200 et 400 et l'insert est intégré au niveau de la position 300. Or, cet insert est découpé en deux fragments de 50 pb par EcoRI, on divise donc ce fragment de 300 pb en deux fragments de 150 pb !

On obtient au final **deux fragments de 150 pb, un fragment de 200 pb et un fragment de 2600 pb** !

C) Vrai : **Plasmide avec insert non muté, digestion par XhoI et EcoRI** : XhoI coupe à 200 et 600 pb ; et EcoRI coupe à 400 pb et ne clive pas l'insert au niveau de la position 300.

$$600 - 400 = 200$$

$$400 - 200 + 100 = 300$$

L'insert n'étant pas muté, il n'est pas digéré par EcoRI et le fragment conserve cette fois-ci une longueur de 300 pb.

D) Faux : seul EcoRI possède un site de restriction sur l'insert lorsqu'il est muté, une digestion seulement par XhoI ne permettra pas de mettre en évidence cette mutation et donc de différencier les inserts mutés des inserts sains, on générera des produits de digestion identiques !

E) Faux