

1/	E	2/	BD	3/	B	4/	ABC	5/	AD
6/	C	7/	D	8/	D	9/	B	10/	C
11/	BC	12/	AD	13/	E	14/	C	15/	E
16/	ABD	17/	BD	18/	B	19/	CD	20/	AD
21/	CD	22/	C	23/	ACD	24/	C	25/	BC
26/	ABD	27/	A	28/	C	29/	ACD	30/	BD
31/	ACD	32/	ABC	33/	A	34/	BD	35/	ACD
36/	A	37/	B	38/	BCD	39/	BD	40/	BCD

Concours blanc n°1

QCM 1 : E

- A) Faux : elle est **très** utilisée, dans presque toutes les spécialités médicales
 B) Faux : en très **petite** quantité
 C) Faux : il y a une différence de stabilité entre l'ADN et l'ARN, c'est pourquoi on utilise **préférentiellement** l'ADN qui lui est beaucoup moins sensible aux protéases que l'ARN. L'item est donc doublement faux
 D) Faux : SI TU AS MIS VRAI JE TE FAIS LA GUEULE. L'acide nucléique est extrait à partir de toute **cellule NUCLEE**. Ici, « toutes cellules » inclus les globules rouges, or ce ne sont pas des cellules nucléées, donc l'item est bien faux
 E) Vrai

QCM 2 : BD

- A) Faux : c'est l'**ADN** qui peut être extrait de tout ça. (Explication à l'item B)
 B) Vrai : puisque l'ADN est le même partout, il peut être extrait de n'importe quelle cellule tant qu'elle a un noyau, alors que l'ARN est spécifique de l'expression d'un gène donc on ne peut l'extraire que de la cellule que l'on cible
 C) Faux : dans une solution **HYPOTONIQUE**
 D) Vrai
 E) Faux

QCM 3 : B

- A) Faux : il s'agit bien d'une technique de base, mais elle permet d'obtenir en grande quantité une **région spécifique** du génome. C'est pourquoi on dit qu'il s'agit d'une technique spécifique
 B) Vrai : contrairement à l'**amplification** où **UNE seule** amorce est nécessaire
 C) Faux : terminaison ? WTF. C'est **dénaturation – hybridation – élongation**
 D) Faux : c'est une polymérase d'origine **bactérienne**
 E) Faux

QCM 4 : ABC

- A) Vrai
 B) Vrai : il s'agit bien d'une méthode indirecte contrairement au séquençage de l'ADN
 C) Vrai : c'est la définition
 D) Faux : la méthode de Sanger est une méthode **manuelle**
 E) Faux

QCM 5 : AD

- A) Vrai : on suppose qu'un vecteur a le gène codant pour la **béta-galactosidase** au niveau du site **polylinker**. S'il y a introduction de l'insert (au niveau du site polylinker donc), le gène codant pour la bêta-galactosidase sera forcément **interrompu par l'insert** et donc **non-fonctionnel** : il ne va pas y avoir synthèse de bêta-galactosidase, du coup pas d'hydrolyse de X-Gal, et donc **pas de couleur bleue** ! Les bactéries ayant intégré l'insert formeront donc bien des colonies **blanches**
 B) Faux
 C) Faux
 D) Vrai
 E) Faux

QCM 6 : C (hors programme)

- A) Faux : l'étude au niveau des protéines se fait avec un Western-Blot sur gel d'**acrylamide** dénaturant
- B) Faux : l'étude au niveau des ADN se fait avec un **Southern-Blot** sur gel d'**agarose** dénaturant
- C) Vrai
- D) Faux : cf. item A)
- E) Faux

QCM 7 : D

- A) Faux : on ne parle de transfection que pour les cellules eucaryotes, or le clonage moléculaire utilise des cellules **procaryotes**. L'introduction d'ADN recombinant dans ces cellules s'appelle donc la **transformation** et non la transfection !
- B) Faux : ADN **EXOgène** !
- C) Faux : tout est vrai sauf le fait que le clonage d'expression se fait uniquement avec des cellules **eucaryotes**, on parle donc de **transfection** et non de transformation !
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 8 : D

Plasmide sans insert : $2500 - 2400 = \underline{100}$ pb
 $2400 - 750 = \underline{1650}$ pb
 $3200 - (100 + 1650) = \underline{1450}$ pb

Plasmide avec insert : $2500 - 2400 = \underline{100}$ pb
 $2400 - 750 + 450 = \underline{2100}$ pb
 $3200 - (100 + 1650) = \underline{1450}$ pb

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

Tutorat n°1

QCM 9 : B

- A) Faux : une amniocentèse nous permet de travailler préférentiellement avec des cellules amniotiques
- B) Vrai
- C) Faux : c'est la phase aqueuse qui contient l'ADN, la phase phénolique est colorée afin de ne pas confondre ces deux phases
- D) Faux : la SIMPLE ?????? la SIMPLE ? Vraiment ? La DOUBLE plutôt non ?
- E) Faux

QCM 10 : C

- A) Faux : ça serait un peu sans intérêt... il s'agit d'une amplification spécifique
- B) Faux : la dénaturation se fait grâce à la chaleur. La Taq Polymérase permet l'élongation
- C) Vrai : 70/72°C c'est presque pareil ! Après 60°C ce serait faux
- D) Faux : la séparation se fait en fonction de leur taille
- E) Faux

QCM 11 : BC

- A) Faux
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : c'est le codon 380
- E) Faux

QCM 12 : AD

- A) Vrai : la bactérie *Flavobacterium psychrophilum* est ampicilline-**sensible** et **survivra** sur la boîte d'agar car **il n'y a pas d'ampicilline** (attention à bien lire l'énoncé !!!)
- B) Faux : la bactérie *Haemophilus paragallinarum* est ampicilline-**résistante** et **survivra** sur la boîte d'agar qu'il y ait ou pas de l'ampicilline !
- C) Faux : la bactérie *Flavobacterium psychrophilum* est ampicilline-sensible et **survivra** sur la boîte d'agar (cf. A)
- D) Faux : la bactérie *Haemophilus paragallinarum* est ampicilline-**résistante** et **survivra** sur la boîte d'agar (cf. B)
- E) Faux

QCM 13 : E

La digestion par **Xho I** entraîne 2 **fragments à 150 pb et 50 pb** chez un sujet contrôle **sain**, c'est-à-dire chez les sujets qui ne présentent **pas la mutation c.2350 A>G**

→ **Piste 1**: Il y a deux fragments (150 + 50 pb)

L'enzyme de restriction a fonctionné sur les 2 allèles (vu qu'il n'y a que 2 fragments) donc le père est **homozygote sain (non porteur de la mutation)**

→ **Piste 2**: Il y a trois fragments (200 + 150 + 50 pb)

L'enzyme de restriction n'a fonctionné que sur un des allèles (qui est ici l'allèle sain), donc la mère est **hétérozygote mutée (porteuse de la mutation)**

→ **Piste 3** (*même principe que pour la mère*): le frère nouveau-né est **hétérozygote porteur** de la mutation

→ **Piste 4** (*même principe que pour le père*): La sœur aînée est **homozygote non porteuse** de la mutation

A) Faux

B) Faux

C) Faux

D) Faux

E) Vrai : Le père et la sœur aînée ne sont **pas porteurs** de la mutation c.1997G>C, la mère et le frère nouveau-né sont porteurs de cette mutation à l'état **hétérozygote**

QCM 14 : C

A) Faux : **érythrocyte = globule rouge**, or il n'y a **pas d'ADN dans un globule rouge** car c'est une cellule dépourvue de noyau ! L'ADN érythrocytaire n'existe donc pas

B) Faux : un Western Blot correspond à une migration électrophorétique de protéines, or là on veut identifier la ou les mutations causales dans le **gène** responsable, on va donc travailler sur de l'**ADN** ce qui fait qu'une étude des protéines et donc un Western Blot n'ont aucun intérêt !

C) Vrai

D) Faux : dans ce cas, on ne demande pas à identifier une mutation en particulier mais on cherche à étudier tout le **gène responsable** !

La réponse D aurait été vraie si la question avait été plus du genre : « Vous recherchez la mutation c.333A>G dans le gène ABC » car dans ce cas, on cherche une mutation ciblée, ce qui justifie l'utilisation d'enzymes de restriction suivie d'une électrophorèse ! Retenez qu'on utilisera toujours la méthode la plus efficace et la plus simple devant un cas clinique donné. D'après cet énoncé, la pathologie est monogénique ce qui correspond au syndrome de Wolfram dans le cours. Référez-vous au schéma bilan où une **maladie monogénique** est identifiée uniquement par **PCR-séquençage**, alors qu'une **mutation ciblée** (achondroplasie) nécessite d'abord une **PCR-RFLP** suivie d'une **PCR-séquençage** !

E) Faux

QCM 15 : E

A) Faux : c'est Sanger qui est la seule méthode de référence, on n'a pas assez de recul pour pouvoir dire que le NGS peut être une méthode de référence

B) Faux : mais naaaaaan : il y a un ddNTP et les 4 dNTP dans un tube, c'est tout le principe !

C) Faux : non pas forcément comme le premier codon du gène WFS1

D) Faux : le clonage moléculaire ne peut se faire qu'avec des cellules procaryotes, jamais avec des cellules eucaryotes !

E) Vrai

QCM 16 : ABD

A) Vrai : l'ADN recombinant en piste 1 fait **6300 pb** d'après le marqueur de poids moléculaire. On sait que le **plasmide** fait **6000 pb** et que l'**insert** fait **300 pb**. On a donc **6000 + 300 = 6300 pb** soit un **ADN recombinant ayant intégré un insert** ! On remarque également qu'il n'y a qu'un **seul fragment** de 6300 pb en piste 1. Si on utilise une seule enzyme de restriction, étant donné qu'elles ne peuvent toutes **couper qu'à un seul endroit** sur le plasmide, on aura bien une **ouverture** de l'ADN recombinant, mais on ne pourra **pas le cliver en deux fragments**, on n'aura qu'une simple « ouverture du cercle » ! Il aurait fallu utiliser deux enzymes différentes pour le digérer en deux fragments !

Cette théorie est donc bien compatible/correspond au produit de migration obtenu en piste 1, et ce quelle que soit l'enzyme utilisée !

B) Vrai : l'ADN recombinant en piste 2 a été digéré en **deux fragments de 5700 et 300 pb**, ce qui fait au total **6000 pb** et correspond bien au cas d'un plasmide **n'ayant pas intégré d'insert** (le total aurait été de 6300 pb le cas échéant). **Sma II** coupe à la position **5850** et **Hpa II** à la position **150**

On obtient donc un premier fragment de $5850 - 150 = 5700 \text{ pb}$

Et un second fragment de $6000 - 5700 = 300 \text{ pb}$

C) Faux : l'ADN recombinant en piste 3 a été digéré en **quatre fragments de 4000, 1250, 750 et 300 pb**, ce qui fait au total **6300 pb** et correspond au cas d'un plasmide **ayant intégré l'insert** (le total aurait été de 6000 pb si le plasmide n'avait pas contenu d'insert). Il est donc inutile d'aller plus loin et de s'embêter à faire d'autres calculs, l'item est bien faux puisque l'ADN recombinant **contient nécessairement un insert** au vu de la taille de la somme de tous les produits de migration !

D) Vrai : l'ADN recombinant en piste 4 a été digéré en **trois fragments de 4000, 1250 et 750 pb**, ce qui fait au total **6000 pb** et correspond au cas d'un plasmide **n'ayant pas intégré l'insert**. Les enzymes de restrictions **Sma II**, **Xho I** et **Alu I** coupent respectivement aux positions **5850, 600 et 4600**

On a donc : $5850 - 4600 = 1250 \text{ pb}$

$4600 - 600 = 4000 \text{ pb}$

$6000 - (1250 + 4000) = 6000 - 5250 = 750 \text{ pb}$

E) Faux

Tutorat n°2

QCM 17 : BD

A) Faux : la maladie de Charcot Marie Tooth est une maladie qui touche plusieurs gènes, et pas un seul comme le Syndrome de Wolfram par exemple. Si maintenant on recherche bien des mutations dans un seul gène c'est bien une PCR suivie d'un séquençage que l'on doit réaliser

B) Vrai : c'est tout l'exemple de la famille B du deuxième cours, allez voir la fiche si vous avez pas tout compris, sinon on est là pour vous expliquer ;)

C) Faux : il n'y pas d'intérêt à faire une PCR en temps réel (*pour rappel, la PCR en temps réel est une méthode quantitative et c'est pas du tout ce qu'on cherche là*). Dans cette situation on va réaliser un clonage moléculaire (carte de restriction etc...)

D) Vrai : c'est tout l'intérêt cette fois ☺

E) Faux

QCM 18 : B

A) Faux : le fœtus est hétérozygote malade (l'achondroplasie est une maladie autosomique dominante) car il a un amplicon intact non-coupé de 164 pb (allèle sain), et deux autres fragments de 109 et 55 pb qui indique qu'il y a eu coupure au niveau de l'allèle muté

B) Vrai : c'est l'enzyme BmI qui a coupé, donc la mutation est G>A

C) Vrai : cf. B)

D) Faux : le père est porteur de la mutation c.1138G>A dans le gène FGFR3 à l'état **hétérozygote**, s'il avait été homozygote il y aurait eu uniquement deux fragments de 109 et 55 pb car les deux allèles auraient été coupés et aurait générés chacun un fragment de 55 pb et un fragment de 109 pb qui se seraient superposés sur le gel

E) Faux

QCM 19 : CD

A) Faux : tout est vrai sauf que le caryotype de l'individu est normal, il est anormal en cas d'anomalie du nombre de chromosomes (pathologie chromosomique), c'est-à-dire à une échelle différente. On est en effet ici à l'échelle nucléotidique et il n'y aura aucune anomalie de visible à l'échelle chromosomique et donc à l'échelle du caryotype

B) Faux : une maladie autosomique = génétique est une anomalie de structure (mucoviscidose, achondroplasie ...) où le caryotype est normal // maladie chromosomique qui est une anomalie de nombre (trisomies...) où le caryotype est anormal ++++

C) Vrai : tout simplement

D) Vrai : les maladies autosomiques et gonosomiques sont les deux sous-catégories de maladies génétiques en fonction du type de chromosome qui possède une séquence mutée, mais comme l'anomalie est à l'échelle nucléotidique (mutation) elle n'aura aucune répercussion sur le caryotype !

E) Faux

QCM 20 : AD

A) Vrai : l'amplification du fragment a été bloquée par l'insertion d'un **didéoxycytosine TriPhosphate** à son extrémité 3', le brin formé (c'est-à-dire lu sur l'électrophorèse) le plus petit est donc **5' C 3'** !

B) Faux : la séquence du brin séquencé est **complémentaire** de la séquence du brin lu du bas vers le haut sur le gel (cf. D), la séquence du brin séquencé est donc **3'GTCCACGTA---5'** (et oui les brins sont ANTIPARALLELES, on n'oublie pas la Biomol les enfants <3) il fallait donc inverser les extrémités 3' et 5' par rapport au brin lu !

C) Faux : cf. B)

D) Vrai : le brin lu/formé est le brin dont les fragments sont analysés directement sur le gel de l'électrophorèse. La séquence de ce brin est lue de bas en haut, autrement dit des fragments les plus légers qui correspondent aux premiers nucléotides, vers les fragments les plus lourds qui correspondent aux derniers nucléotides de la séquence ! La séquence du brin lu est donc bien **5'CAGGTGCAT---3'**

E) Faux

QCM 21 : CD

- A) Faux : **PRO**caryote je pense pas, **euc**aryote surement oui
B) Faux : la position du Tag en N-terminal ou C-terminal est justement très importante et fait partie de la stratégie envisagée dans les études d'expression, selon que la mutation dont on veut mettre en évidence l'effet est en N-terminal ou en C-terminal
C) Vrai : oui oui, parfaitement <3
D) Vrai : eh oui encore une fois, tout est magnifiquement bien détaillé à la page 22 de votre ronéo 2 !
E) Faux

QCM 22 : C

- A) Faux : on ne peut pas amplifier directement l'ARN par PCR, il faut d'abord passer par l'**ADN complémentaire** via une **transcription inverse** ! De plus la PCR quantitative n'a pas d'indication ici pour rechercher une substitution nucléotidique à l'origine d'un variant d'épissage, on doit utiliser une méthode qualitative et non quantitative !
B) Faux : pas de PCR à partir d'ARNm purifiés, mais à partir d'**ADNc** !
C) Vrai
D) Faux : certes on pourrait utiliser le séquençage au débit pour séquencer tout le gène et ainsi trouver la mutation, dans l'absolu cette technique fonctionnerait, mais n'oubliez pas qu'en génétique médicale on aura toujours recours à **la technique la plus simple et la plus efficace** face à un cas clinique donné ! Ici on cherche à détecter un variant d'épissage dans **un gène donné**, et non pas une maladie polygénique ! Il y a donc mieux à faire que du NGS qui est la méthode « bourrin » :p
Votre mutation ne concernant qu'**un seul gène**, vous préférerez donc faire une PCR à partir de l'ADNc synthétisé suivie d'un séquençage Sanger !
Le **séquençage haut débit** est vraiment réservé aux pathologies impliquant **plusieurs gènes** quand on n'a aucune autre alternative, utiliser le NGS pour détecter un variant d'épissage dans un seul gène reviendrait à utiliser une scie-sauteuse pour ouvrir un bocal de cornichons...
E) Faux

QCM 23 : ACD

- A) Vrai
B) Faux : n'importe quoi, les séquences d'intérêts **sont** reconnues par les sondes de capture, les régions sans intérêt seront éliminées après plusieurs lavages et éluions
C) Vrai
D) Vrai : c'est tout le principe de la PCR en émulsion +++++
E) Faux

QCM 24 : C

- **Piste 1**, l'enzyme de restriction **Pvu II** coupe en position **2280**.
Si on coupe uniquement à cet endroit, on ne fait « qu'ouvrir » le plasmide. Or, le plasmide fait **7200 pb**, donc s'il a intégré un insert, suite de la digestion enzymatique on obtiendra un fragment forcément plus grand et donc plus lourd. Ici, le fragment obtenu sur la piste 1 fait **7850 pb** ; l'insert fait donc $7850 - 7200 = 650 \text{ pb}$.

→ **Piste 2** (*même principe que pour la piste 1*): **EcoR I** coupe en position **5110**.
Ici, le fragment obtenu sur la piste 2 fait encore **7850 pb** ; l'insert fait alors **650 pb**.

→ **Piste 3**, l'enzyme de restriction **Sca I** coupe en position **850** et **Sma I** coupe en position **4350**.
L'insert, s'il est intégré, se retrouvera au niveau d'un fragment de plasmide de $4350 - 850 = 3500 \text{ pb}$.
Sur l'électrophorèse, on obtient un grand fragment de **4150 pb** et un petit fragment de **3500 pb**.
L'insert, intégré au niveau du petit fragment, fait alors $4150 - 3500 = 650 \text{ pb}$.

→ **Piste 4** (*même principe que pour la piste 3*): **Pvu II** coupe en position **2280** et **EcoR I** coupe en position **5110**.
L'insert, s'il est intégré, se retrouvera au niveau du grand fragment de plasmide de $7200 - (5110 - 2280) = 4370$
Sur l'électrophorèse, on obtient un grand fragment de **5020 pb** et un petit fragment de **2830 pb**.
L'insert, intégré au niveau du grand fragment, fait alors $5020 - 4370 = 650 \text{ pb}$.
A) Faux
B) Faux
C) Vrai
D) Faux : cf. A) et B) c'est tout à fait possible car on utilise à chaque fois une seule enzyme qui se contente d'ouvrir l'ADN recombinant sans le couper en plusieurs fragments, on dit que l'ADN recombinant est linéarisé
E) Faux

QCM 25 : BC

- A) Faux : au niveau des pistes 2 et 6, on observe la présence d'un produit PCR de plus grande taille chez l'individu porteur de la mutation par comparaison avec l'individu contrôle non muté, ce qui montre que la mutation identifiée a bien un effet sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt !
- B) Vrai : Cf. A) la stratégie de PCR N°1 permet de savoir si le variant intronique a un effet sur l'épissage) de visualiser l'effet de la mutation sur l'épissage car la piste 1 (individu contrôle non muté) et la piste 2 (individu porteur de la mutation) sont différentes !
- C) Vrai : la stratégie de PCR N°3 ne prend pas en compte l'intron situé entre l'exon 4 et 5 au vu de la position des primers. Au niveau de la piste 6, on observe la présence d'un produit PCR de plus grande taille chez l'individu porteur de la mutation par comparaison avec l'individu contrôle non muté en piste 5, ce qui montre que la mutation identifiée a bien un effet sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt quand on se concentre sur la portion située entre les exons 5 et 6 ! Inversement, la stratégie de PCR N°2 qui prend en compte les introns situés entre les exons 4 et 5, et les exons 5 et 6 ne permet pas d'identifier une quelconque mutation car la piste 3 (individu contrôle non muté) et la piste 4 (individu porteur de la mutation) sont identiques !
- La mutation identifiée ne peut donc être située qu'entre l'exon 5 et l'exon 6 du gène d'intérêt
- D) Faux : Cf. C)
- E) Faux

QCM 26 : ABD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Faux : les maladies autosomiques récessives ne s'expriment pas souvent, hormis dans les familles consanguines. Elles n'ont donc pas beaucoup d'antécédents familiaux !
- D) Vrai : par opposition aux maladies génétiques visibles uniquement à l'échelle nucléotidique n'ayant pas de répercussion sur le caryotype
- E) Faux

QCM 27 : A

- A) Vrai
- B) Faux : une interruption médicale de grossesse peut être proposée à n'importe quel stade de la grossesse, ce qui n'est pas pareil qu'une IVG (interruption volontaire de grossesse)
- C) Faux : on fait les tests sur une seule cellule
- D) Faux : une macrocéphalie retrouvée en cas d'achondroplasie est bien définie par un diamètre bipariétal supérieur au 95^{ème} percentile, mais le signe d'appel échographique qui fait office de référence sur lequel on s'appuie pour évoquer le diagnostic d'achondroplasie est la présence de fémurs courts inférieurs au 3^{ème} percentile
- E) Faux

QCM 28 : C

- A) Faux : les colonies bleues ont intégré un **vecteur sans insert** car le **gène codant pour la bêta-galactosidase** est **fonctionnel**, il hydrolyse le X-Gal (incolore) qui devient bleu donc ces bactéries n'ont pas d'intérêt pour la suite de notre étude ! L'IPTG sert juste à induire la synthèse de bêta-galactosidase par la cellule.
- B) Faux : uniquement les **colonies blanches** car elles contiennent un vecteur avec **insert** qui **inactive** le gène de la bêta-galactosidase, la cellule ne peut alors plus hydrolyser le X-Gal qui reste incolore et **ne devient pas bleu** !
- C) Vrai
- D) Faux : Les bactéries ayant intégré le **plasmide** peuvent se développer et former des colonies grâce à la présence du **gène de résistance à l'ampicilline**
- E) Faux

QCM 29 : ACD

- A) Vrai :

→ Nae I reconnaît la séquence GGTG et pourra couper la séquence uniquement chez un sujet qui possède la mutation c.666 T>G (la succession de nucléotides GGTT devient GGTG en cas de mutation ce qui correspond au site de restriction de l'enzyme Nae I, on peut donc s'en servir pour déterminer le génotype des membres de cette famille).

→ Hpa II reconnaît la séquence TACT et pourra donc couper chez un sujet sain non muté. Cependant, si Hpa II ne coupe pas, cela veut dire que la séquence est mutée et qu'on n'a plus la séquence TACT que reconnaît l'enzyme ? Certes on n'identifiera pas spécifiquement la mutation c.666 T>G qui nous intéresse ! En effet n'importe lequel des nucléotides de la séquence TACT (c'est-à-dire du site de restriction de l'enzyme) peut être touché et empêcher l'enzyme de couper, et même si c'est bien le nucléotide 666 qui est muté, l'enzyme ne coupera pas non plus même si la mutation est par exemple c.666 T>A et non la mutation c.666 T>G qui nous intéresse ! En résumé, une absence de coupure de l'enzyme Hpa II en cas de mutation ne sera pas spécifique de la mutation c.666 T>G, mais on l'utilisera quand-même pour au moins mettre en évidence une absence de mutation car elle reconnaît avant tout la séquence saine. La prof considère qu'on peut tout de même utiliser cette enzyme car dans la pratique clinique, si elle ne coupe

pas cela veut dire qu'on a bien une mutation et dans tous les cas on identifiera cette mutation dans un second temps par un séquençage ! Cette enzyme contribue donc également dans une moindre mesure au diagnostic.

Commentaire de la prof : « c'est exact, il est important qu'ils comprennent bien que dans les cas où l'enzyme de restriction doit couper le WT, en absence de coupure on vérifiera en séquençage et que dans ce type d'expérience on aura ajouté des contrôles positifs et négatifs pour vérifier les bonnes conditions expérimentales. Autrement dit, si l'enzyme n'a pas coupé c'est bien parce que la séquence est modifiée et non parce que les conditions expérimentales n'étaient pas bonnes empêchant l'enzyme de couper même en présence d'une séquence WT »

B) Faux : Alu I reconnaît la séquence AGTA qui n'inclut pas la position 666 mutée

Xho I reconnaît la séquence GGTG qui n'inclut pas la position 666 mutée

Une coupure ou une absence de coupure par ces enzymes ne mettra donc pas en évidence une mutation ou une absence de mutation de la position 666 vu qu'elle n'est pas prise en considération dans leurs sites de restriction respectifs ! On ne pourra par conséquent pas les utiliser

C) Vrai : cf. B)

D) Vrai : Hpa II reconnaît la séquence saine et son absence de coupure indique la présence d'une mutation mais pas nécessairement de la mutation c.666 T>G, tandis que Nae I reconnaît spécifiquement la mutation c.666 T>G lorsqu'elle ne coupe pas

E) Faux

QCM 30 : BD

A) Faux : elle reconnaît une séquence particulière, et non une structure

B) Vrai

C) Faux : elle possède une activité endonucléasique

D) Vrai

E) Faux

QCM 31 : ACD

A) Vrai

B) Faux : le NGS n'utilise pas de ddNTP mais des dNTP qui créent des variations de pH lorsqu'ils sont incorporés, la combinaison 4.C.II n'est pas possible

C) Vrai

D) Vrai

E) Faux

QCM 32 : ABC

A) Vrai :

→ Digestion par Pvu II (1100) et Sma I (500) :

$$1100 - 500 = 600$$

$$1600 - 600 = 1000$$

$$1000 + 200 = 1200$$

→ Digestion par Not I (1400) et Xho I (800) :

$$1400 - 800 = 600$$

$$1600 - 600 = 1000$$

$$800 + 200 = 1200$$

B) Vrai : on génère des fragments de 300 pb d'après l'électrophorèse, attention à ne pas oublier que Hpa II coupe deux fois, en position 100 et dans l'insert qui est muté d'après l'énoncé ! On a donc six sites de restriction à prendre en compte. Inutile de vérifier par le calcul : si on regarde le schéma de la carte de restriction après avoir rajouté le site issu de la mutation de l'insert, on remarque qu'il y a bien six fragments entre tous les différents sites de coupure !

Le fait de générer six fragments de 300 pb nous permet de déterminer que la mutation clive l'insert de 200 pb en deux fragments de 100 pb : le fragment où s'insère l'insert fait $500 - 100 = 400$ pb.

On rajoute les 200 pb de l'insert qui est intégré en position 300, pour obtenir un fragment de $400 + 200 = 600$ pb.

On a donc 200 pb entourant de chaque côté notre insert de 200 pb (puisque'il y a 200 pb d'écart de 100 à 300, de même que de 300 à 500).

Or la digestion de l'insert par Hpa II génère obligatoirement deux fragments de 300 pb d'après les résultats de l'électrophorèse.

On divise donc notre fragment de 600 pb contenant l'insert en plein au milieu en deux fragments de 300 pb, ce qui veut dire que l'insert de 200 pb a été découpé en deux fragments de 100 pb !

C) Vrai : on sait donc que Hpa II clive l'insert intégré au niveau de la position 300 en deux fragments de 100 pb. On a donc 100 pb de l'insert réparties de part et d'autre de la position 300 !

$$300 - 100 = 200$$

$$1600 - 200 = 1400$$

On rajoute ensuite la moitié de l'insert soit 100 pb dans chaque fragment vu que l'insert a été clivé en deux par Hpa II au niveau de la position 300, la moitié se retrouve donc dans le « petit » bout, et l'autre dans le « grand » bout !

On obtient donc ainsi un fragment de 300 pb et un de 1500 pb !

D) Faux : cf. B)

E) Faux

Tutorat n°3

QCM 33 : E

Annales 2012

A) Faux : dans 90% des cas il s'agit d'une néomutation

B) Faux : il n'y a pas de retard mental +++

C) Faux : le RECEPTEUR d'un facteur de croissance fibroblastique

D) Faux : pas du touuuuut, il y a 2 mutations qui sont à l'origine de la mutation

E) Vrai

QCM 34 : BD

A) Faux : la rupture des liaisons hydrogène se fait sous l'action de la chaleur

B) Vrai

C) Faux : la Taq agit sur l'étape d'élongation

D) Vrai

E) Faux

QCM 35 : ACD

Annales

A) Vrai

B) Faux : c'est pour la PCR classique

C) Vrai

D) Vrai

E) Faux

QCM 36 : A

Annales

A) Vrai

B) Faux

C) Faux

D) Faux

E) Faux

QCM 37 : E

A) Faux : la mutation entraîne des **conséquences sur le codon initiateur de la traduction** (AUG → CUG) et elle ne crée donc pas de site cryptique d'épissage AG, elle bloque simplement la traduction de la protéine

B) Faux : la transcription (assurée par la TATA Box, etc...) n'est **pas bloquée** contrairement à la traduction qui nécessite un codon initiateur ici modifié

C) Faux :
5' – CGTTAA **GAATTC** GGAATTG – 3'
3' – GCAATT **CTTAAG** CCTTAAC – 5'

D) Faux :
5' – CGTTAA**G** AATTCGGAATTG – 3'
3' – GCAATTCTTA**G** CCTTAAC – 5'

E) Vrai

QCM 38 : BCD

A) Faux : on ne peut pas éliminer cette hypothèse car comme il y a eu contamination pour la stratégie PCR 1, on ne peut pas conclure, ce qui ne veut pas dire pour autant qu'il n'y a pas quand-même un variant d'épissage au niveau de cet intron !

B) Vrai

C) Vrai : un site cryptique d'épissage exonique va forcément enlever un bout d'exon ce qui rend le variant plus léger que l'allèle sain ! Au contraire un site cryptique d'épissage intronique rajoute un bout d'intron qui devient codant ce qui rend le variant plus lourd que l'allèle sain !

D) Vrai : le fragment le plus léger correspond à l'allèle sain puisqu'on cherche un variant d'épissage intronique, si le variant d'épissage avait été exonique on aurait forcément perdu un bout d'exon lors de l'épissage ce qui aurait

diminué la taille du variant par rapport à l'allèle sain ! Or le variant étant intronique il ne peut qu'être plus lourd que l'allèle sain du fait qu'une portion de séquence intronique devient codante lors de l'épissage et rallonge l'ARNm. De plus l'écart étant plus important entre les deux produits de migration de la colonne 6 qu'entre les deux produits de la colonne 4, le variant d'épissage y est forcément de taille plus importante ! L'allèle sain en piste 6 est plus léger que l'allèle sain en piste 4, or le variant en piste 6 est plus lourd que le variant en piste 4, ce qui veut dire que la portion intronique qui a été rajoutée au sein de l'ADNc est plus importante !

E) Faux

QCM 39 : BD

A) Faux : la **mutation** responsable de la thrombophilie par mutation du facteur V de Leiden est **connue**, c'est **toujours la même** au même nucléotide de l'unique et même gène (maladie **monogénique**), le diagnostic se fera donc exactement comme dans le cas de l'**achondroplasie**, simplement en utilisant une **enzyme de restriction** adaptée et en faisant une **PCR-RFLP** suivie d'une **PCR-séquençage** !

B) Vrai : la recherche d'une trisomie 13, 18 ou 21 chez les fœtus peut nécessiter un séquençage haut débit lors d'un DPNI ! Cependant, en cas de suspicion, le diagnostic devra **toujours être confirmé** par une **amniocentèse** suivie d'un **séquençage Sanger** qui est la seule et l'unique **méthode de référence** nécessaire à tout diagnostic.

C) Faux : la recherche de **variants d'épissage pathologiques dans un gène connu** est réalisé, exactement comme dans le cas du **syndrome de Wolfram**, avec les techniques classiques de biologie moléculaire et ne nécessite **pas de NGS** !

D) Vrai : Le NGS est indiqué dans le diagnostic des **maladies polygéniques impliquant donc plusieurs gènes** comme le **syndrome de Charcot-Marie-Tooth** (cf. schéma bilan)

E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 40 : BCD

A) Faux : la digestion par EcoRI génère deux coupures aux positions 1700 et 400

Plasmide sans insert : $1700 - 500 = 1200$ pb

$$2500 - 1200 = 1300 \text{ pb}$$

Plasmide avec insert non muté : $2500 - 1200 = 1300$ pb

$$1700 - 500 + 400 = 1600 \text{ pb}$$

Plasmide avec insert muté : on aura exactement les mêmes bouts générés que dans le cas où l'insert n'est pas muté car la mutation génère un site de restriction pour l'enzyme *Pvu II*, or là on n'utilise que l'enzyme *EcoRI* ce qui ne change rien à son fonctionnement ! *EcoRI* est donc inutile pour identifier la mutation

B) Vrai : la digestion par EcoRI et Pvu II génère trois coupures aux positions 500, 1700 et 2000 pour un ADN recombinant ne contenant pas d'insert

Plasmide sans insert : $2000 - 1700 = 300$ pb

$$1700 - 500 = 1200 \text{ pb}$$

$$2500 - (300 + 1200) = 1000 \text{ pb}$$

C) Vrai : l'insert ne porte pas la mutation donc *Pvu II* ne le coupera pas en deux fragments de 200 pb

Plasmide sans insert : cf. B) on obtient trois fragments de 300 pb, 1200 pb et 1000 pb. On rajoute l'insert au niveau du fragment de 1250 pb

Plasmide avec insert non muté : $2000 - 1700 = 300$ pb

$$1700 - 500 = 1200 \text{ pb}$$

$$2500 - (300 + 1200) = 1000 \text{ pb}$$

$$1200 + 400 (\text{insert}) = 1600 \text{ pb}$$

D) Vrai : l'insert est porteur de la mutation qui génère un site de restriction supplémentaire pour *Pvu II* : l'insert va donc être coupé en deux fragments de 200 pb. Les fragments ne contenant pas l'insert ne seront pas concernés et conserveront la même taille

Plasmide avec insert muté : $2000 - 1700 = 300$ pb

$$1700 - 500 = 1200 \text{ pb}$$

$$2500 - (300 + 1200) = 1000 \text{ pb}$$

$$1200 + 400 (\text{insert}) = 1600 \text{ pb}$$

L'insert est incorporé en position 600 au sein du fragment de 1600 pb qui le contient. On sait que *Pvu II* va le couper en deux bouts de 200 pb

On a donc un site de coupure supplémentaire à la position 600 avec 200 pb de chaque côté que l'on devra rajouter car l'insert incorporé sera clivé en deux fragments de 200 pb !

Ainsi le fragment de 1600 pb sera donc remplacé par deux fragments de :

$$600 - 500 = 100 \text{ pb}$$

$$200 + 100 = 300 \text{ pb}$$

$$1700 - 600 = 1100 \text{ pb}$$

$$1100 + 200 = 1300 \text{ pb}$$

On peut d'ailleurs vérifier que $1300 + 300 = 1600$ pb, ce qui correspond bien à la taille totale du fragment avec insert non muté, c'est-à-dire quand *Pvu II* ne coupe pas dans l'insert !

On obtient en réalité deux fragments de 300 pb qui se superposent

E) Faux