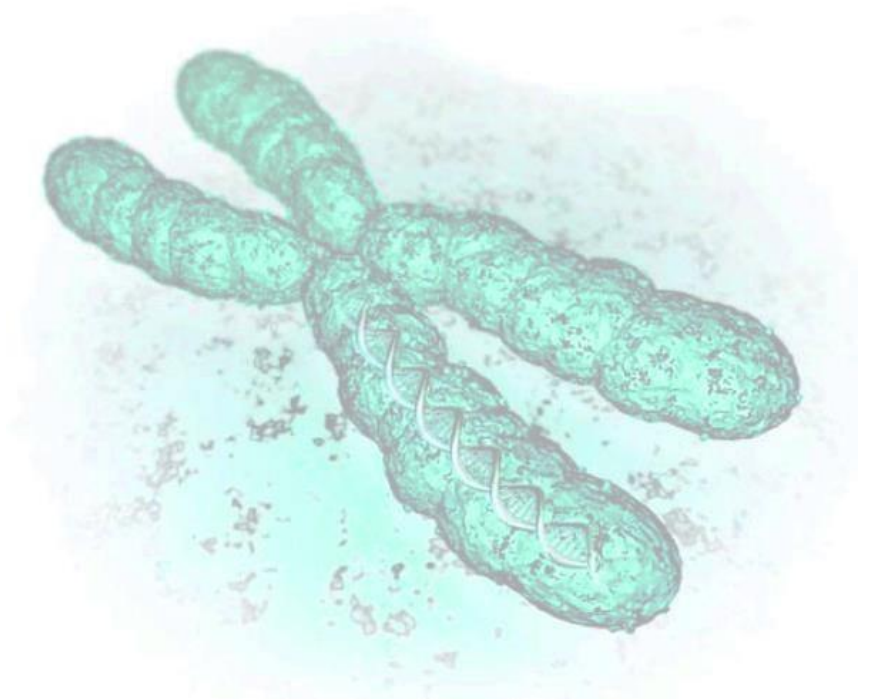


ANNALES

Biologie Moléculaire

UE11

Lilou Sanger & AnNévrisme



SOMMAIRE

1. Annales 2019	3
Correction	6
2. Annales 2018	8
Correction	11
3. Annales 2017	13
Correction	16
4. Annales 2016	18
Correction	21
5. Annales 2015	23
Correction	26
6. Annales 2014	28
Correction	31
7. Annales 2013	33
Correction	36
8. Annales 2012	38
Correction	41
9. Annales 2011	38
Correction	41

1. Annales 2019

2019

QCM 1 : Pour étudier les remaniements chromosomiques, quelle(s) technique(s) pouvez vous utiliser ? Indiquez la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Le caryotype
- B) L'extraction d'ARN messager
- C) La PCR-RFLP
- D) La PCR en temps réel
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Concernant la technique de séquençage haut débit (NGS), indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Elle peut permettre de séquencer la totalité des régions codantes des gènes connus
- B) L'analyse informatique des données brutes de séquençage permet d'identifier les variants nucléotidiques
- C) Il s'agit d'une technique récente qui améliore l'identification des gènes responsables des maladies génétiques
- D) Elle est réalisée à partir de l'ADN génomique du patient à étudier
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Concernant l'analyse des fragments d'ADN sur gel d'agarose après migration électrophorétique, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Les fragments d'ADN migrent de l'anode vers la cathode
- B) Les fragments d'ADN sont séparés en fonction de leur taille
- C) Les fragments d'ADN migrent de la cathode vers l'anode
- D) Les fragments d'ADN sont séparés en fonction de leur composition nucléotidique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Concernant les techniques de biologie moléculaire, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Certaines techniques permettent de rechercher les mutations dans les gènes
- B) Elles n'évoluent plus depuis une dizaine d'années
- C) Elles permettent d'analyser l'ADN et l'ARN
- D) Certaines techniques permettent de quantifier l'expression des gènes
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous recevez en consultation une famille dans laquelle se transmet une maladie autosomique récessive. Vous suspectez la présence de la mutation c.377 G>A dans le gène XYZ. Pour rechercher cette mutation vous réalisez une PCR (amplification en chaîne par la polymérase) suivie d'une digestion enzymatique. La séquence d'un sujet contrôle sain encadrant la position 377 est (la position 377 est surlignée) :

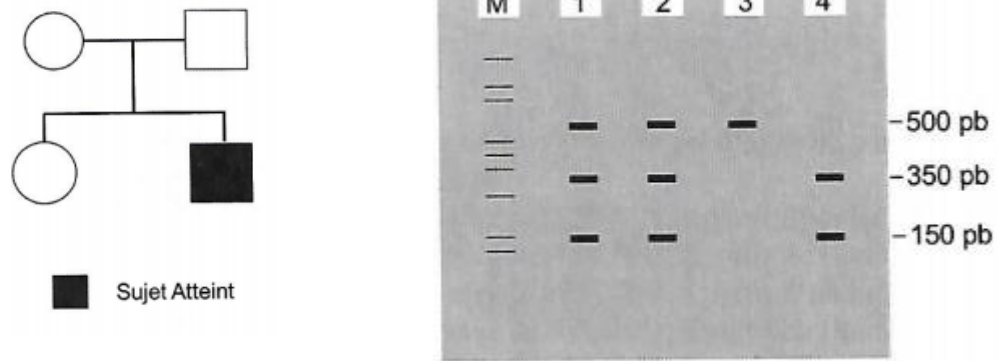
TTACTGGGTCCGTG

Pour déterminer le génotype des différents membres de la famille, vous utilisez l'enzyme de restriction *Bam*HI dont le site de restriction est : GGATCC. Le fragment amplifié a une taille de 500 paires de bases (pb) chez un sujet contrôle sain. La digestion par BamHI entraîne deux fragments à 350pb et 150pb.

Le gel ci-dessous est obtenu après digestion par BamHI des produits d'amplification réalisés à partir des prélèvements sanguins des différents membres de cette famille. Les produits de digestion sont séparés sur gel d'agarose après migration électrophorétique.

M : marqueur de poids moléculaire.

Piste 1 : mère ; piste 2 : père ; piste 3 : fille et piste 4 : fils.



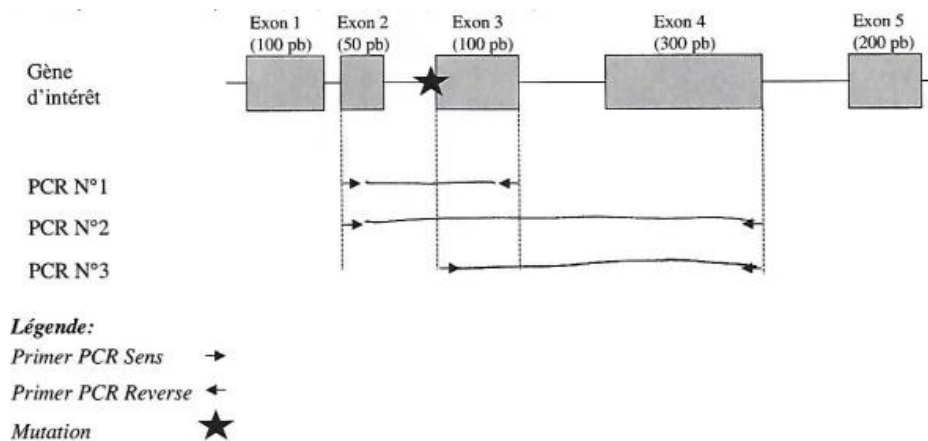
D'après les résultats présentés ci-dessus, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Les parents sont hétérozygotes pour la mutation c.377G>A
- B) Les 2 enfants sont homozygotes pour la mutation c.377G>A
- C) Le fils n'est pas porteur de la mutation c.377G>A, il est atteint d'une autre maladie
- D) La fille n'est pas porteuse de la mutation c.377G>A
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 6 : Concernant le génome humain, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Les régions codantes représentent 70% du génome humain
- B) Il n'existe pas de technique capable de séquencer la totalité du génome humain
- C) La séquence du génome humain est entièrement connue
- D) Grâce au séquençage haut débit (NGS), la fonction de tous les gènes est connue
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Vous avez identifié une nouvelle mutation (étoile) présente à l'état homozygote au niveau du dernier nucléotide de l'intron 2 de votre gène d'intérêt. Pour vérifier l'effet de ce variant sur l'épissage de votre ARNm d'intérêt vous effectuez une extraction d'ARN suivie de la synthèse d'un ADN complémentaire (ADNc) correspondant. Vous avez ensuite amplifié cet ADNc, par PCR (amplification en chaîne par la polymérase), en utilisant 3 couples d'amorces (primers) différentes (PCR N°1, PCR N°2, PCR N°3) :



Les produits PCR obtenus sont analysés sur un gel d'agarose par migration électrophorétique.

M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : Produit PCR obtenu, avec la PCR N°1, à partir d'un individu contrôle non muté

Piste 2 : Produit PCR obtenu, avec la PCR N°1, à partir d'un individu porteur de la mutation

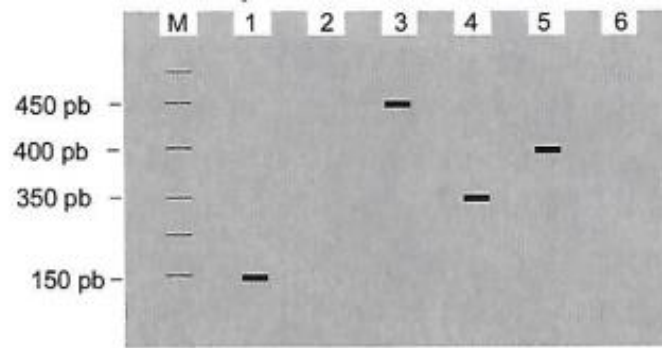
Piste 3 : Produit PCR obtenu, avec la PCR N°2, à partir d'un individu contrôle non muté

Piste 4 : Produit PCR obtenu, avec la PCR N°2, à partir d'un individu porteur de la mutation

Piste 5 : Produit PCR obtenu, avec la PCR N°3, à partir d'un individu contrôle non muté

Piste 6 : Produit PCR obtenu, avec la PCR N°3, à partir d'un individu porteur de la mutation

Représentation schématique du gel d'électrophorèse obtenu après migration des produits PCR :



Concernant l'interprétation du gel, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s)

- A) La mutation identifiée a un effet sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt
- B) L'expérience ne permet pas de conclure car il n'y a pas de produit PCR dans les pistes 2 et 6
- C) La mutation identifiée n'a pas d'effet sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt
- D) Pour confirmer l'effet de la mutation le produit PCR déposé dans la piste 4 doit être séquencé par la méthode Sanger
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 8 : Concernant la technique de PCR (amplification en chaîne par la polymérase), indiquer la ou les réponse(s) exacte(s)

- A) Elle fonctionne à partir d'ADN génomique
- B) Elle permet d'amplifier en grande quantité une région spécifique d'ADN génomique
- C) Elle nécessite des cycles successifs de variations de pH
- D) Elle présente des risques importants de contamination entre les échantillons
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 9 : Concernant la recherche d'une mutation causale dans une famille par PCR (amplification en chaîne par la polymérase) et séquençage Sanger, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s)

- A) La confirmation du diagnostic nécessitera la réalisation d'un séquençage haut débit (NGS)
- B) La confirmation du diagnostic peut nécessiter des analyses complémentaires pour déterminer la pathogénicité du variant identifié
- C) Contrairement au NGS, cette approche n'identifie que les mutations déjà rapportées
- D) Le diagnostic peut être obtenu à partir de prélèvements sanguins réalisés sur tube EDTA
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction :

2019

QCM 1 : A

- A) Vrai
- B) Faux
- C) Faux
- D) Faux : NON la PCR en temps réelle étudie la quantité de GENE
- E) Faux

QCM 2 : ABCD

- A) Vrai

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

QCM 3 : BC

- A) Faux : voir item C
- B) Vrai
- C) Vrai (même moi je me suis trompé au début j'avais mis l'item A juste ... vraiment pas cool celui-là)
- D) Faux : NOOOOON on l'avait fait tomber au CCB
- E) Faux

QCM 4 : ACD

- A) Vrai
- B) Faux : si elle évolue
- C) Vrai
- D) Vrai : OUI la PCR en temps réelle
- E) Faux

QCM 5 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : Le fils oui mais pas la fille
- C) Faux : Le fils est porteur de la mutation à l'état homozygote
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 6 : C

- A) Faux : 5%
- B) Faux : Et le NGS
- C) Vrai
- D) Faux : PAS TOUS
- E) Faux

QCM 7 : AD

- A) Vrai : Les bandes 3 et 4 ont des tailles différentes
- B) Faux : Les bandes 2 et 6 sont absentes car les primers utilisés sont des séquences de l'exon 3. Si l'exon 3 n'est pas transcrit (dans le cadre de la mutation) alors pas d'hybridation des primers donc pas de PCR et pas de bande. Les bandes 3 et 4 nous permettaient de conclure
- C) Faux : voir item A
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 8 : ABD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Faux : Absolument pas
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 9 : BD

- A) Faux
- B) Vrai
- C) Faux : Cela impliquerait que les mutations du génome ont été trouvées qu'à partir du NGS (année 2000) OR bien avant le séquençage Sanger permettait de trouver des mutations
- D) Vrai
- E) Faux

1. Annales 2018

2018

QCM 1 : Vous recevez en consultation un couple dont l'enfant est atteint d'un syndrome de Wolfram (pathologie autosomique récessive). L'analyse du gène WFS1 révèle la présence d'une mutation causale à l'état homozygote chez l'enfant. Les parents sont porteurs de cette mutation à l'état hétérozygote.

Concernant le risque pour cette famille d'avoir un 2^{ème} enfant atteint, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) 0%
- B) 25%
- C) 50%
- D) 100%
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

~~**QCM 2** : Concernant la technique de PCR (*polymerase chain reaction*) en temps réel. Indiquer la ou les réponse(s)~~

exacte(s) :

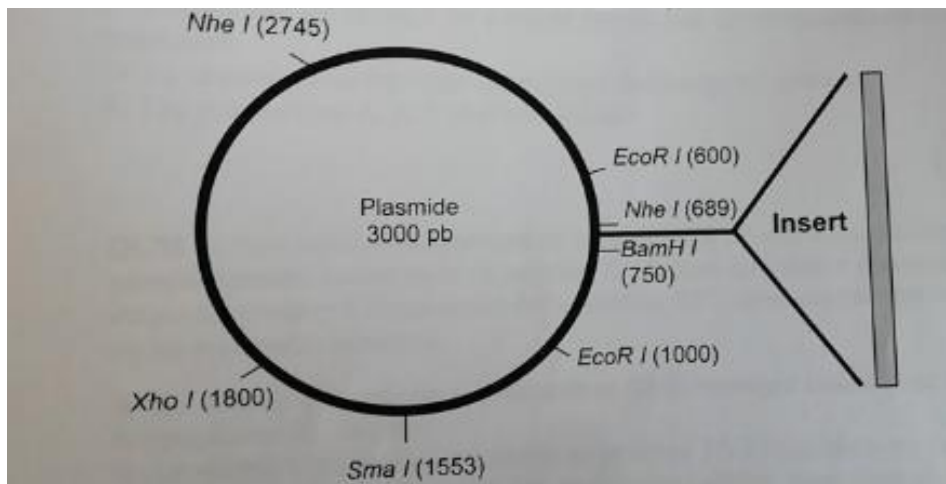
- A) En présence de SYBRGreen, la mesure de fluorescence est effectuée à la fin de l'étape de dénaturation
- B) En présence d'une sonde taqman, la fluorescence est émise au moment de l'hybridation de la sonde taqman
- C) La quantification des produits PCR générés est effectuée après dépôt des produits PCR sur gel d'agarose
- D) En présence de SYBRGreen, la mesure de la fluorescence permet de quantifier les produits PCR synthétisés
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 3 : Concernant la technique de séquençage haut débit (NGS). Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Cette technique permet de séquencer plusieurs patients en même temps dans une même réaction
- B) Il s'agit de la première technique de séquençage inventée en 1977
- C) Cette technique permet de séquencer en parallèle des molécules d'ADN séparées et amplifiées individuellement
- D) La migration électrophorétique des produits de séquençage permet de connaître l'enchaînement des nucléotides
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

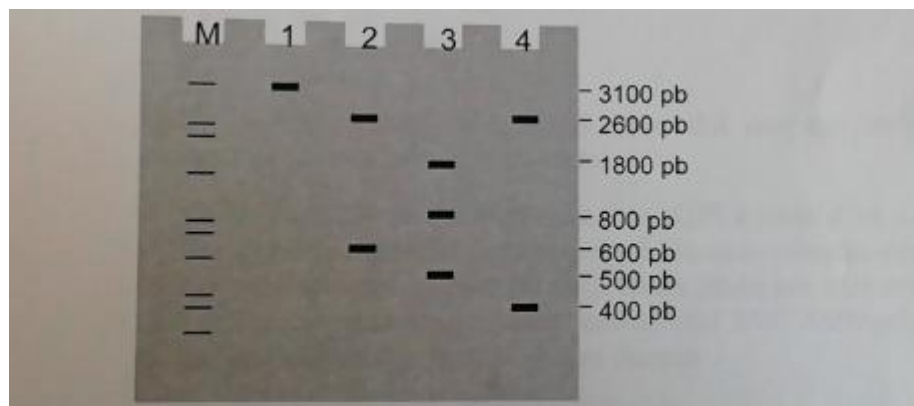
QCM 4 : Vous souhaitez isoler 2 fragments de 100 pb et 200 pb (pb : paires de bases), par clonage moléculaire, à partir d'une réaction PCR. Les produits PCR sont insérés en position 700 sur le plasmide. Les positions des sites de coupures sur le plasmide pour les enzymes de restriction *EcoRI*, *XhoI*, *BamHI*, *SmaI* et *NheI* sont figurés. Les inserts ne comportent aucun des sites précédemment cités présents sur le plasmide.

La carte de restriction est schématisée ci-dessous.



Pour vérifier les clones obtenus, vous effectuez différentes digestions enzymatiques. Les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.

M= marqueur de taille



Concernant les résultats visualisés sur le gel d'agarose. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La piste 1 correspond au résultat obtenu après digestion enzymatique par *EcoRI* ; l'insert correspond au produit PCR de 200 pb
- B) La piste 2 correspond au résultat obtenu après digestion enzymatique par *EcoRI* ; l'insert correspond au produit PCR de 200 pb
- C) La piste 3 correspond au résultat obtenu après digestion enzymatique par *XhoI* et *EcoRI* ; l'insert correspond au produit PCR de 100 pb
- D) La piste 4 correspond au résultat obtenu après digestion enzymatique par *EcoRI* ; l'insert n'est pas présenté dans le vecteur
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 5 : Concernant les caractéristiques d'un vecteur de clonage. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Un vecteur de clonage est un ADN double brin circulaire
- B) Après transformation bactérienne, les bactéries contenant le vecteur deviennent sensibles à l'ampicilline
- C) Un vecteur de clonage ne possède pas de site de reconnaissance pour des enzymes de restriction
- D) La séquence nucléotidique des vecteurs de clonage est connue
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 6 : Pour vérifier l'expression de la protéine XYZ que vous étudiez, vous clonez l'ADN complémentaire codant pour la protéine XYZ dans un vecteur d'expression. Concernant les étapes nécessaires à l'expression de la protéine XYZ dans des cellules eucaryotes. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le vecteur d'expression est transcrit en ARN messager codant pour la protéine XYZ dans le cytoplasme des cellules
- B) Le vecteur d'expression est traduit en protéine XYZ dans le noyau des cellules
- C) Le vecteur d'expression reste à la surface des cellules eucaryotes après transfection
- D) Le vecteur d'expression possède le promoteur nécessaire à l'expression de l'ARN messager codant pour la protéine XYZ
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 7 : Concernant les caractéristiques des enzymes utilisées en biologie moléculaire. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Les ADN polymérases synthétisent un ADN à partir d'un ARN messager
- B) Les ligases permettent de former des liaisons covalentes entre les brins d'ADN double brin
- C) Les exonucléases coupent les nucléotides situés aux extrémités d'un fragment d'ADN
- D) Les Taq polymérases possèdent une activité 5'-3' ADN polymérase
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 8 : Concernant l'achondroplasie. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) C'est une pathologie autosomique dominante
- B) Un enfant atteint peut avoir des parents non porteurs de la mutation causale
- C) Un séquençage au débit permet de faire le diagnostic de cette maladie après visualisation des produits de séquence sur gel
- D) C'est une pathologie qui est responsable d'un retard mental
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 9 : Vous suspectez une mucoviscidose chez un nourrisson. Vous voulez confirmer votre diagnostic. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Vous demandez un caryotype à partir d'un prélèvement sanguin sur tube d'EDTA
- B) Vous demandez un caryotype à partir d'un prélèvement sanguin sur tube hépariné
- C) Vous demandez une analyse moléculaire à partir d'un prélèvement sanguin sur tube d'EDTA
- D) Vous demandez une analyse moléculaire à partir d'un prélèvement sanguin sur tube hépariné
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

Correction :**2018****QCM 1 : B**

Père/ mère	WFS1	wfs1
WFS1	SAIN	Porteur sain
wfs1	Porteur sain	MALADE

La maladie étant récessive, il faut que l'enfant ai les 2 allèles mutés pour être malade. Chaque petite case représente ¼ des possibilités, soit 25%. ⇒ réponse B.

QCM 2 : D

- A) Faux : la mesure de la fluorescence se fait à la fin de l'étape d'élongation (la fluorescence apparaît uniquement à partir du moment où la molécule SYBR green a été intercalée dans l'ADN double brin). Je veux pas dire, mais c'était en rouge énorme isolé dans la fiche
- B) Faux : la fluorescence est émise à la fin de l'étape d'élongation : la polymérase va synthétiser un brin de 5' en 3', et cette polymérase possède aussi une activité 5'-3' exonucléasique, et va ainsi grignoter la sonde Taqman en entrant en contact avec elle. On libère alors le fluorochrome du quencher, qui pourra alors fluorescer.
- C) Faux : la quantification des produits PCR est générée est effectuée directement après chaque cycle grâce à un thermocycleur. /!\ Ici on parle toujours de la technique PCR en temps réel.
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : AC

- A) Vrai : c'est même tout son intérêt
- B) Faux : pas du tout ! En 1977 on a bien la 1ère technique de séquençage qui apparaît, mais c'est la méthode manuelle de Sanger ! Le NGS apparaît en 2007.
- C) Vrai : définition du NGS : « séquençage massif en parallèle de molécules d'ADN individuellement séparées et amplifiées sous forme de clones ou de molécules uniques. »
- D) Faux : non, c'est dans le cas de la méthode de Sanger, ici il s'agit d'une méthode informatisée
- E) Faux

QCM 4 : BCD

Il faut comprendre dès le début qu'il y a 3 possibilités :

- Plasmide sans insert ;
- Plasmide + insert de 100 pb ;
- Plasmide + insert de 200 pb.

Les inserts ne sont pas porteurs de mutation, on ne prend donc en compte que les sites de restriction présents sur le plasmide.

- A) Faux : On ne s'embête pas à faire un calcul, on voit en piste 1 un seul produit de migration de 3100 pb. Or le plasmide fait 3000 pb, l'insert fait donc ici obligatoirement
- $$3100 - 3000 = 100 \text{ pb.}$$

De plus EcoRI possède 2 sites de restrictions, en utilisant EcoRI on génère 2 fragments et non pas un seul, il y avait donc 2 pièges dans cet item (on avait fait exactement les 2 même au tut', on dit ça comme ça)

- B) Vrai : $2600 + 600 = 3200$, la somme des fragments peut donc correspondre à une insertion de 200 pb (soit $3000 + 200 = 3200$). On vérifie donc quelle taille sont supposée faire les fragments après digestion par EcoRI :

$$1000 - 600 = 400$$

$$3000 - 400 = 2600$$

$400 + 200 = 600$ On génère donc des fragments de 2600 et 600 pb.

- C) Vrai : Même raisonnement : $1800 + 800 + 500 = 3100$ (insert de 100 pb). EcoRI a des sites de restriction aux positions 1000 et 600 et xho1 à la position 1800.

$$1800 - 1000 = 800$$

$$1000 - 600 = 400$$

$$3000 - (800 + 400) = 3000 - 1200 = 1800$$

$$400 + 100 = 500$$

- D) Vrai : idem : $2600 + 400 = 3000$, ce qui correspond bien au cas où l'insert n'est pas présent (on a que le vecteur de 3000 Pb). On vérifie la taille des fragments générés après digestion par EcoRI :

$$1000 - 600 = 400$$

$$3000 - 400 = 2600$$

- E) Faux

QCM 5 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : les bactéries qui ont incorporé l'ADN recombinant ont aussi incorporé le gène de résistance à l'ampicilline. Elles ne sont donc pas sensibles à l'ampicilline.
- C) Faux : ah bah si, vaut mieux si on veut que les enzymes de restriction digèrent le vecteur et l'insert.
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 6 : D

Ici on est dans le cas du clonage d'expression, ce qcm fait directement référence au schéma bilan du cours

- A) Faux : c'est une des bases (vue en biomol au S1) : la transcription se fait dans le noyau.
- B) Faux : la traduction de l'ARNm a lieu dans le cytoplasme où sont les ribosomes (bah oui, c'est pas parce qu'on est au S2 que le S1 doit être oublié hein).
- C) Faux : la transfection du vecteur d'expression se fait dans le cytoplasme et il va ensuite migrer dans le noyau pour que le gène d'intérêt soit transcrit (il peut même s'intégrer transitoirement ou durablement dans le génome de la cellule, c'est le concept de recombinaison homologue que vous avez dû voir en biocell').
- D) Vrai : parmi les caractéristiques du vecteur d'expression on retrouve un promoteur eucaryote sans lequel il ne peut pas y avoir de transcription
- E) Faux

QCM 7 : BCD

- A) Faux : les ADN polymérases synthétisent un brin d'ADN à partir d'un autre brin d'ADN.
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 8 : AB

- A) OUI et j'espère qu'aucun de vous n'a fait faux là-dessus
- B) Vrai : dans 90% des cas il s'agit d'une mutation de novo
- C) Faux : on fait pas du NGS avec l'achondroplasie
- D) Faux. Qui a mis vrai à ça ? si c'est le cas tu fais 30 pompes merci
- E) Faux

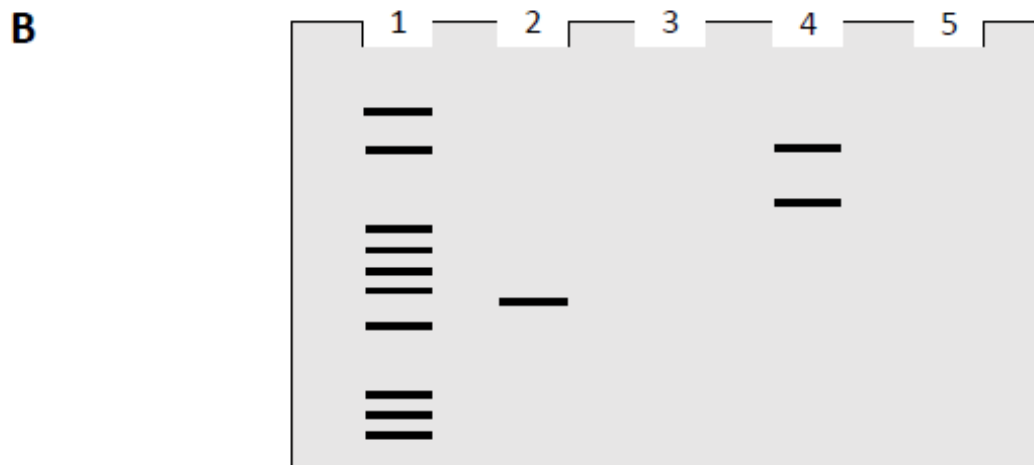
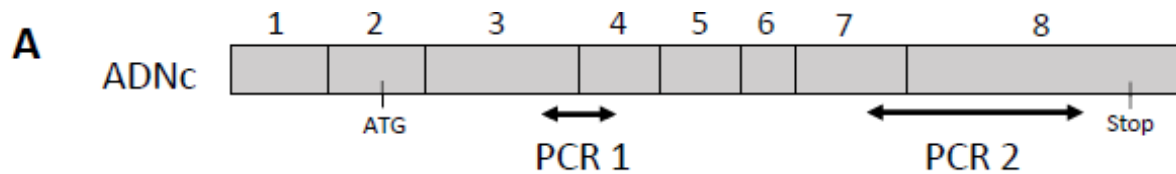
QCM 9 : C

La mucoviscidose n'est pas une maladie de nombre, donc faire un caryotype est inutile ici, il faut faire une analyse du chromosome donc faire une analyse moléculaire. Et on le fait sur EDTA, parce que l'héparine inhibe les enzymes lors de la PCR (donc tout ce qu'on a fait devient inutile).

2. Annales 2017

2017

QCM 1 : Vous recherchez la présence d'un variant d'épissage dans le gène *WFS1* chez un patient suspect de syndrome de Wolfram. Vous effectuez une extraction d'ARN, suivie d'une étape de transcription inverse pour synthétiser l'ADNc (ADN complémentaire) correspondant. Vous réalisez ensuite deux PCR (PCR 1 et PCR 2) pour cibler les 2 régions d'intérêt du gène. Le schéma A représente l'ADNc du gène *WFS1*, la stratégie PCR est représentée par les flèches, les 8 exons par des rectangles. Le résultat obtenu après migration électrophorétique sur gel d'agarose des produits PCR est représenté sur le schéma B.



Piste 1 : Marqueur de poids moléculaire

Piste 2 : Produit PCR obtenu avec la PCR 1

Piste 3 : Témoin négatif de la PCR obtenu avec la PCR 1

Piste 4 : Produit PCR obtenu avec la PCR 2

Piste 5 : Témoin négatif de la PCR obtenu avec la PCR 2

Concernant l'interprétation de ce gel, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Un variant d'épissage à l'état homozygote est suspecté entre l'exon 3 et l'exon 4
- B) Un variant d'épissage à l'état hétérozygote est suspecté entre l'exon 3 et l'exon 4
- C) Un variant d'épissage à l'état homozygote est suspecté entre l'exon 7 et l'exon 8
- D) Un variant d'épissage à l'état hétérozygote est suspecté entre l'exon 7 et l'exon 8
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 2 : Concernant la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction).

Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La PCR permet d'amplifier une région spécifique d'ADN génomique
- B) La PCR repose sur 2 étapes successives incluant une étape de dénaturation de l'ADN et une étape d'élongation par une ADN polymérase
- C) La PCR est une technique très sensible avec des risques de contaminations inter-échantillons importants
- D) La PCR nécessite la présence d'une enzyme de restriction spécifique
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 3 : Pour détecter la présence d'une mutation, vous devez mettre au point une technique de PCR suivie d'une digestion enzymatique par une enzyme de restriction. Vous souhaitez que la présence de la mutation génère un site de restriction.

Séquence non mutée : AGTCCTCGGATCACGGGAATTCCGTCATG

Séquence mutée : AGTCCTCGGATCCCGGGAATTCCGTCATG

Le nucléotide correspondant au site de la mutation A>C est représenté souligné.

Les sites reconnus par les enzymes de restrictions dont vous disposez sont les suivants :

EcoRI : GAATTC

SmaI : CCCGGG

BclI : TGATCA

AvaI : CTCGAG

BamHI : GGATCC

Concernant les enzymes de restrictions que vous pouvez utiliser pour détecter la mutation, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

A) *EcoRI* et *SmaI*

B) *BclI* et *AvaI*

C) *BamHI* et *AvaI*

D) *SmaI* et *BclI*

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

QCM 4 : Vous recevez en consultation une famille dans laquelle se transmet une maladie autosomique dominante. Le gène XYZ est connu pour être responsable des signes cliniques présentés par les différents membres de cette famille. Plusieurs mutations dans les différents exons de ce gène ont déjà été décrites. Quelle(s) est(sont) la ou les méthode(s) que vous pouvez utiliser pour rechercher la mutation causale dans ce gène chez un patient de cette famille ?

A) Le séquençage direct de l'ADN génomique extrait à partir des globules rouges du patient

B) Le séquençage des produits PCR correspondants aux régions codantes du gène

C) Le séquençage des produits PCR correspondants aux régions codantes du gène obtenus à partir du prélèvement plasmatique du patient

D) Le séquençage des produits PCR correspondants aux régions non codantes du gène

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

QCM 5 : Parmi les étapes nécessaires à la préparation des échantillons pour réaliser un séquençage haut débit, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

A) L'ADN génomique doit être fragmenté par des enzymes de restrictions *EcoRI*, *BamHI* et *XhoI*

B) Des adaptateurs en 5' et 3' des extrémités de l'ADN génomique fragmenté doivent être ajoutés

C) Plusieurs patients peuvent être mélangés et séquencés dans la même réaction de séquence

D) La PCR en émulsion nécessite l'utilisation d'un seul couple d'amorces spécifiques des adaptateurs placés aux extrémités 5' et 3'

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

QCM 6 : Une patiente est enceinte de 26 semaines d'aménorrhée. Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) concernant les éléments qui vont vous faire suspecter une achondroplasie fœtale.

A) Des antécédents de nanisme dans la famille de son conjoint qui mesure 1m70

B) Des os longs courts (fémurs <3ème percentile) et un BIP (diamètre bipariétal) inférieur au 3ème percentile

C) Des os longs courts (fémurs <3ème percentile) et un BIP (diamètre bipariétal) supérieur au 95ème percentile

D) Des os longs courts (fémurs <3ème percentile) et un immobilisme fœtal

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

QCM 7 : Concernant la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel.

Indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

A) La PCR en temps réel peut être utilisée en virologie pour déterminer la quantité de virus présent chez un individu infecté

B) Les produits générés par la PCR en temps réel sont vérifiés sur un gel d'agarose après 40 cycles d'amplification

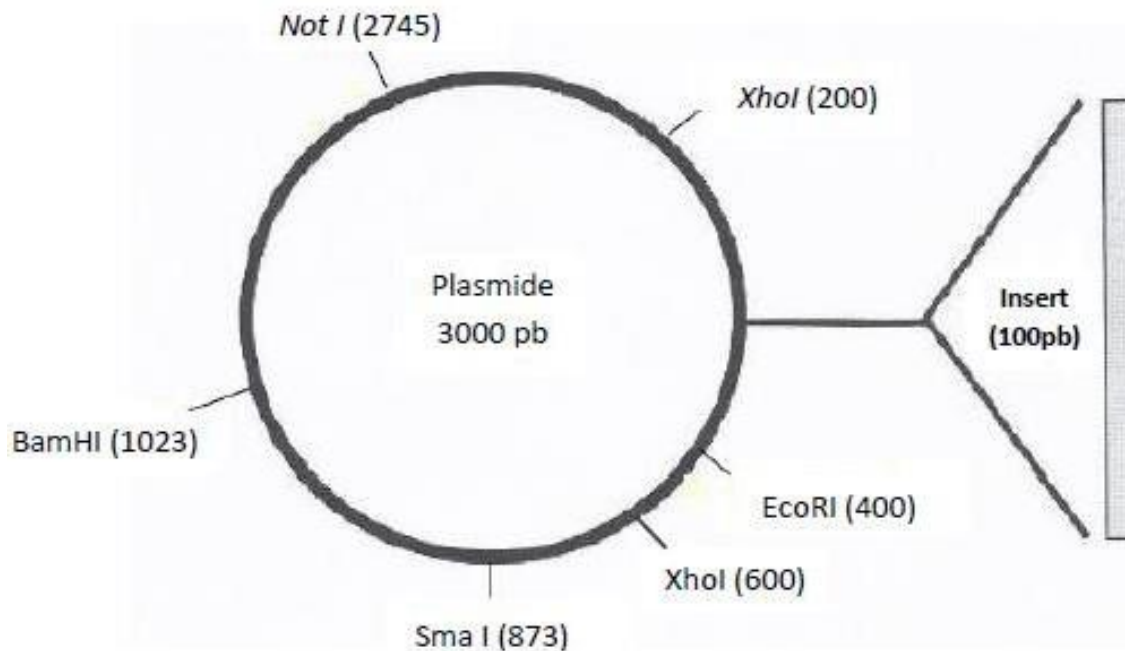
C) Au cours de la PCR en temps réel, l'utilisation d'une sonde Taqman permet de quantifier les produits PCR générés

D) La PCR en temps réel se déroule à 37°C

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

QCM 8 : Vous souhaitez isoler, par clonage moléculaire, les produits PCR provenant d'un patient porteur d'une mutation à l'état hétérozygote. La taille du produit PCR est de 100 pb et la présence de la mutation crée un site *EcoRI* qui clive le produit PCR en 2 fragments de 50 pb (pb : paires de bases). Le produit PCR est inséré en position 300 sur le plasmide.

La carte de restriction est schématisée ci-dessous. Les positions des sites de coupures sur le plasmide pour les enzymes de restriction (*EcoRI*, *SmaI*, *NotI*, *XhoI* et *BamHI*) sont figurées. Hormis le site *EcoRI*, l'insert ne comporte aucun des autres sites présents sur le plasmide. Après digestion par différentes enzymes de restriction, les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.



Concernant les résultats visualisés sur gel d'agarose, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

- A) La digestion simultanée par *XhoI* et *EcoRI* libère des fragments à 200 pb + 2600 pb pour un ADN recombinant ne contenant pas d'insert
- B) La digestion simultanée par *XhoI* et *EcoRI* libère des fragments à 150 pb + 200 pb + 2600 pb pour un ADN recombinant contenant un insert porteur de la mutation
- C) La digestion simultanée par *XhoI* et *EcoRI* libère des fragments à 200 pb + 300 pb + 2600 pb pour un ADN recombinant contenant un insert ne portant pas la mutation
- D) La digestion par *XhoI* permettra de différencier les ADN recombinant possédant l'insert avec la mutation de ceux portant l'insert sans la mutation
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

Correction :**2017****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 foetal 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 génèrera des produits de digestion identiques !

E) Faux

3. Annales 2016

2016

QCM 1 : Pour rechercher une mutation à l'origine d'une maladie dans un gène connu, vous utilisez la technique du séquençage haut débit (NGS) par capture des régions d'intérêts. Dans l'ordre chronologique, quelles sont les principales étapes de cette technique ? Donnez-la (les) proposition(s) vraie(s) :

- A) Une fragmentation de l'ADN génomique, la ligation des adaptateurs en 3' et 5' des fragments d'ADN génomique, une capture des régions d'intérêt, une amplification clonale par PCR, un séquençage
- B) Une fragmentation de l'ADN génomique, une ligation des fragments d'ADN dans un vecteur, une amplification par PCR, un séquençage
- C) Une extraction d'ARN, la production d'un ADN complémentaire (ADNc), un clonage moléculaire dans un vecteur, une amplification par PCR, un séquençage
- D) Une amplification clonale par PCR, une digestion enzymatique par une enzyme de restriction, un séquençage
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 2 : Parmi les outils utilisés en biologie moléculaire, certaines enzymes permettent de dégrader un brin d'ARN à partir d'un hybride ADN/ARN. De quelles enzymes s'agit-il ?

- A) Les enzymes de restrictions
- B) Les RNAses
- C) Les exonucléases
- D) Les endonucléases
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 3 : Lors du séquençage par NGS, l'ADN génomique fragmenté est amplifié par PCR clonale en émulsion. Quelles sont les particularités des amorces utilisées pour cette étape de PCR en émulsion ?

- A) Les amorces qui s'hybrident en 5' et en 3' des fragments d'ADN ont toutes des séquences différentes car spécifiques des gènes à amplifier
- B) Les amorces qui s'hybrident en 5' des fragments ont toutes la même séquence
- C) Les amorces qui s'hybrident en 5' et en 3' des fragments d'ADN sont de séquence inconnue, elles s'hybrident aléatoirement sur l'ensemble des fragments d'ADN
- D) Les amorces qui s'hybrident en 3' des fragments ont toutes la même séquence
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 4 : Concernant l'extraction de l'ADN génomique par la méthode au phénol/chloroforme, quelles sont les principales étapes réalisées dans l'ordre chronologique ?

- A) La lyse des cellules, l'extraction au phénol/chloroforme, la récupération du culot d'ADN génomique par centrifugation, le traitement par la protéinase K
- B) La lyse des cellules, le traitement par la protéinase K, l'extraction au phénol, la précipitation de l'ADN génomique avec de l'éthanol absolu en présence de sels, l'extraction au chloroforme, la récupération du culot d'ADN génomique par centrifugation
- C) La lyse des cellules, le traitement par la protéinase K, l'extraction au phénol/chloroforme, la précipitation de l'ADN génomique avec de l'éthanol absolu en présence de sels
- D) La lyse des cellules, la précipitation de l'ADN génomique avec de l'éthanol absolu en présence de sels, le traitement à la protéinase K, l'extraction au phénol/chloroforme, la récupération du culot d'ADN génomique par centrifugation
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

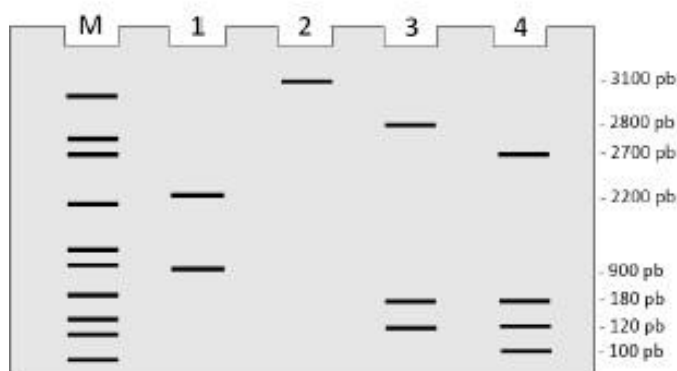
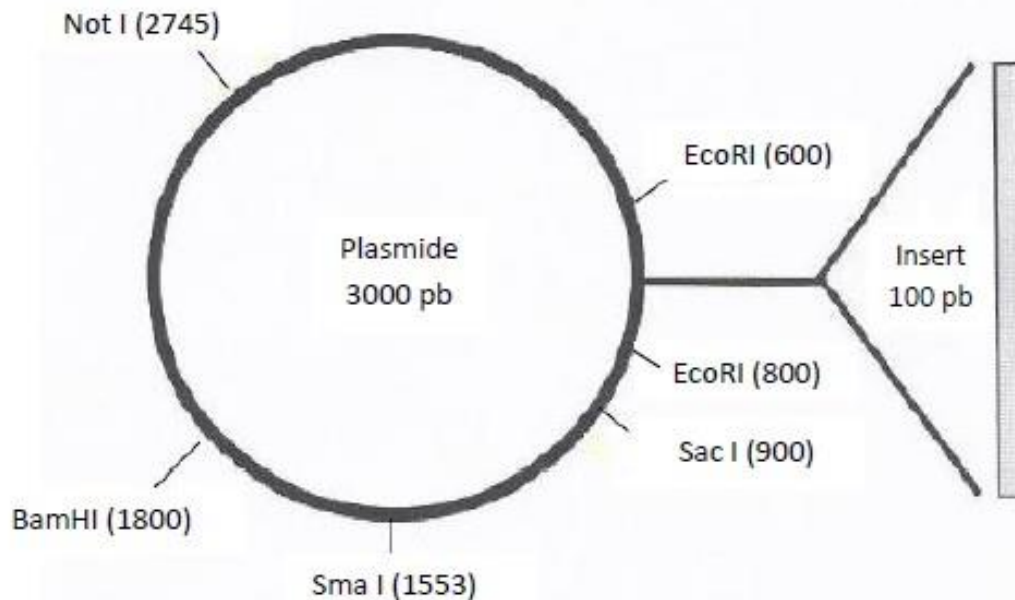
QCM 5 : Vous recevez en consultation une famille dans laquelle se transmet une maladie autosomique dominante. Le gène est connu, plusieurs mutations dans ce gène ont déjà été décrites. Quelle(s) est (sont) la (les) méthode(s) que vous pouvez utiliser pour rechercher la mutation causale dans ce gène chez un patient de cette famille :

- A) Le séquençage des produits PCR correspondants aux régions codantes du gène
- B) Le séquençage haut débit
- C) Une digestion enzymatique avec l'enzyme de restriction EcoRI à partir d'un produit PCR correspondant à un exon du gène
- D) Le séquençage direct de l'ADN génomique extrait à partir des leucocytes du patient
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 6 : Concernant l'utilisation d'une ADN polymérase, à partir d'une amorce ADN simple brin hybridée sur un fragment d'ADN simple brin, donner la ou les proposition(s) vraie(s) :

- A) L'ajout de dNTPs (désoxyribonucléotides) permet de synthétiser un brin d'ADN
- B) Lors de la synthèse du brin d'ADN, l'ajout d'un dNTP libère un ion H^+
- C) L'ajout de ddNTPs (didésoxyribonucléotides) bloque la progression de l'ADN polymérase
- D) L'ajout de dNTPs permet à l'ADN polymérase de dégrader l'ADN simple brin
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 7 : Vous réalisez un clonage moléculaire suivi d'une carte de restriction pour vérifier l'ADN recombinant que vous avez obtenu. Le fragment est inséré en position 700 sur le plasmide. La carte de restriction est schématisée ci-dessous. Les positions des sites de coupures pour les enzymes de restriction (*EcoRI*, *SmaI*, *NotI*, *SacI*, *XhoI* et *BamHI*) sont figurées. Vous ne connaissez pas la séquence exacte de l'insert de 100 paires de bases (pb : paires de bases). Après digestion par différentes enzymes de restriction, les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.



M : marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : ADN recombinant digéré par les enzymes de restriction *SacI* et *BamHI*

Piste 2 : ADN recombinant digéré par les enzymes de restriction *SmaI*

Piste 3 : ADN recombinant digéré par les enzymes de restriction *EcoRI*

Piste 4 : ADN recombinant digéré par les enzymes de restriction *EcoRI* et *SacI*

Suite à l'interprétation du gel d'agarose, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) concernant l'ADN recombinant analysé :

- A) L'insert peut posséder un site de reconnaissance pour l'enzyme *EcoRI* en position 80 sur l'insert
- B) L'insert peut posséder un site de reconnaissance pour l'enzyme *SacI* en position 50 sur l'insert
- C) L'insert ne possède pas de site de reconnaissance pour les enzymes *EcoRI*, *SmaI*, *SacI* ou *BamHI*
- D) L'insert possède un site de reconnaissance pour l'enzyme *EcoRI* en position 20 sur l'insert
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

QCM 8 : Devant un fémur court sur une échographie fœtale du troisième trimestre de la grossesse, vous suspectez une achondroplasie. Donner la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La taille normale des parents élimine le diagnostic d'achondroplasie
- B) La radiographie du contenu utérin permet de confirmer le diagnostic d'achondroplasie
- C) Le diagnostic moléculaire d'une achondroplasie nécessite une analyse par séquençage haut débit
- D) Si le diagnostic d'achondroplasie est confirmé, il ne sera pas possible de proposer une interruption médicale de grossesse au couple à cause de l'état d'avancement de la grossesse
- E) Les propositions A, B, C, D sont fausses

Correction :**2016****QCM 1 : A**

Dans l'ordre chronologique, on a :

1. Fragmentation de l'ADN génomique
2. Ligation des adaptateurs en 3' et en 5'
3. Capture des régions d'intérêt
4. Purification des fragments d'ADN capturés
5. Dégradation des sondes de capture
6. Amplification clonale par PCR
7. Purification des sphères avec l'ADN amplifié
8. Séquençage individuel des sphères
9. Analyse informatique

QCM 2 : B

- A) Faux
B) Vrai : l'exemple vu en cours est celui de la RNase H
C) Faux
D) Faux
E) Vrai

QCM 3 : BD

- A) Faux : tous les **adaptateurs A** ont la **même séquence** pour tous les patients et tous les **adaptateurs P1** ont la **même séquence** pour tous les patients ; par contre A et P1 sont de séquences différentes
B) Vrai : cf. A)
C) Faux : on connaît la séquence des adaptateurs A et P1
D) Vrai
E) Faux

QCM 4 : C

- A) Faux
B) Faux
C) Vrai : dans l'ordre chronologique, on a :
1. Lyse des cellules
2. Traitement par la protéinase K (pour enlever les protéines)
3. Extraction des acides nucléiques au phénol/chloroforme
4. Précipitation des acides nucléiques par ajout d'éthanol et de sels
D) Faux
E) Faux

QCM 5 : A

- A) Vrai : d'après l'énoncé on est dans le cas où on a plusieurs mutations qui existent sur un seul gène. Même si la mutation est ici dominante, ce cas clinique ressemble à celui du syndrome de Wolfram du cours avec le gène WFS1. En effet vous avez vu que pour ce syndrome il existe plusieurs mutations possibles du même gène et que pour identifier la mutation causale, il faut faire un séquençage des régions codantes du gène en première intention !
B) Faux : utilisé pour rechercher plusieurs mutations dans plusieurs gènes
C) Faux : utilisé pour rechercher une mutation ciblée très précisément définie, et on ne sait pas si la mutation que l'on recherche ici est sensible à une éventuelle digestion par *EcoRI*. De plus on ne connaît peut-être pas toutes les mutations de ce gène donc même si une enzyme de restriction peut détecter la présence d'une de ces mutations, elle ne fonctionnerait que si cette mutation précise est présente. Si notre patient ne l'a pas, on peut juste éliminer cette mutation mais il en resterait de nombreuses autres à tester ce qui nous ferait perdre énormément de temps. Le plus logique est donc de séquencer les exons pour identifier directement la mutation !
On ne demande pas à identifier une mutation en particulier mais on cherche à identifier le gène responsable.
D) Faux : l'item est faux à cause du « direct » : il y a en effet une amplification par PCR nécessaire avant de pouvoir séquencer quoi que ce soit !
E) Faux

QCM 6 : ABC

- A) Vrai
- B) Vrai : cela va entraîner une variation de pH : cette propriété est utilisée dans le NGS !
- C) Vrai
- D) Faux : la dégradation se fait par des enzymes à activité nucléasique et non pas par ajout de dNTPs
- E) Faux

QCM 7 : A

➤ **Piste 1** : après digestion par *SacI* et *BamHI*, on obtient :

- Un petit fragment de $1800 - 900 = 900$ pb
- Un grand fragment (avec insert) de $2100 + 100 = 2200$ pb

➤ **Piste 2** : après digestion par *SmaI*, on obtient :

- Un fragment unique de 3100 pb (l'enzyme a juste ouvert le plasmide avec insert)

Les pistes 1 et 2 nous ont permis de vérifier que l'insert a bien été intégré dans le plasmide.

➤ **Piste 3** : après digestion par *EcoRI*, on devrait **normalement** obtenir :

- Un petit fragment de $(800 - 600) + 100 = 300$ pb
- Un grand fragment de $3000 - 200 = 2800$ pb

En analysant le gel, on voit qu'on obtient bien **le fragment de 2800 pb mais on remarque aussi que le fragment de 300 pb a été coupé en deux fragments plus petits de 120 pb et 180 pb !**

Hypothèse : l'insert **posséderait** aussi un site de reconnaissance pour **EcoRI**, et d'après la taille des fragments obtenus, ce site de coupure pourrait se situer à **deux endroits différents** sur l'insert :

1. Le site de reconnaissance pour *EcoRI* **pourrait** se situer en position **20** de l'insert

OU

2. Le site de reconnaissance pour *EcoRI* **pourrait** se situer en position **80** de l'insert

➤ **Piste 4** : après digestion par *SacI* et *EcoRI*, on obtient en plus par rapport à la piste 3 :

- Un fragment de $900 - 800 = 100$ pb

- A) Vrai
- B) Faux : voir piste 4
- C) Faux : l'insert en possède un pour **EcoRI** (soit en position 20, soit en position 80)
- D) Faux : on ne peut pas l'affirmer car *EcoRI* pourrait aussi très bien couper en position **80** de l'insert, attention à la formulation de l'énoncé ! L'item aurait été vrai s'il y avait « peut posséder » à la place de « possède »
- E) Faux

QCM 8 : E

- A) Faux : 90% des enfants atteints naissent de parents non atteints
- B) Faux : le diagnostic doit être toujours confirmé par l'analyse moléculaire de l'ADN du fœtus
- C) Faux : par PCR-RFLP ou PCR-Séquençage
- D) Faux : l'interruption médicale de grossesse est toujours possible, à n'importe quel stade
- E) Vrai

4. Annales 2015

2015

QCM 1 : Pour faire le diagnostic d'une maladie génétique de type Charcot Marie Tooth pour laquelle plusieurs gènes ont été identifiés, quelle(s) technique(s) allez-vous utiliser pour identifier le gène responsable ?

Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Une amplification par PCR suivie d'une digestion enzymatique par une enzyme de restriction
- B) Le séquençage des gènes connus responsables de cette pathologie par séquençage haut débit
- C) Une extraction d'ARN
- D) Une PCR quantitative
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Parmi les outils utilisés en biologie moléculaire, certaines enzymes permettent de synthétiser le brin d'ADN complémentaire à partir d'une amorce d'ADN. De quelles enzymes s'agit-il ? Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Les enzymes de restriction
- B) Les ADN ligases
- C) Les exonucléases
- D) Les endonucléases
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Vous suspectez la présence de la mutation c.323A>G du gène XYZ dans une famille. La séquence nucléotidique qui encadre cette mutation sur un allèle sain est la suivante (position 323 soulignée) :

TATGCTGAATCCCGGG

Vous voulez réaliser une PCR qui encadre cette mutation, suivie d'une digestion enzymatique, pour la rechercher. Vous disposez des enzymes de restriction suivantes :

***EcoR I*, site de restriction : GAATTC**

***BamH I*, site de restriction : GGATCC**

***Hpa I*, site de restriction : GTTAAC**

***Sma I*, site de restriction : CCCGGG**

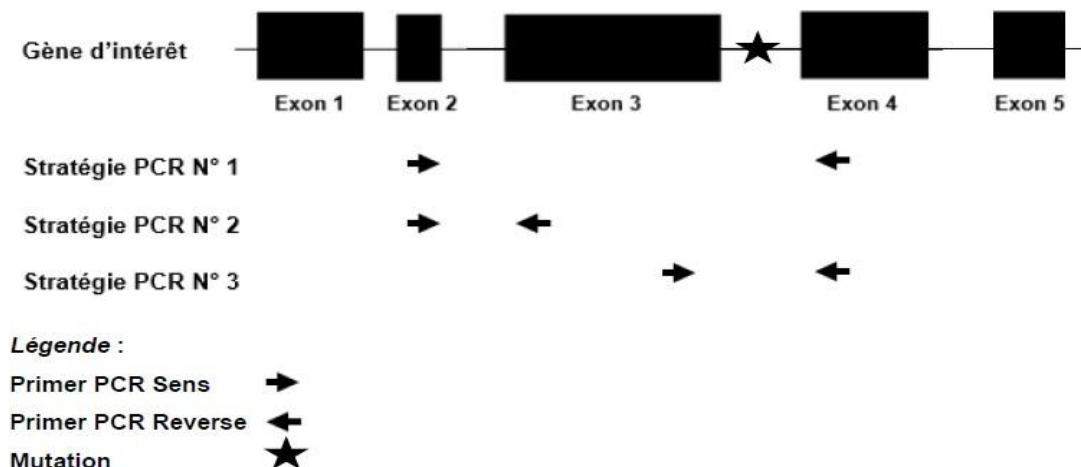
Quelle(s) enzyme(s) de restriction sera(ont) informative(s) pour détecter la présence de cette mutation ?

Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) *BamH I* et *EcoR I*
- B) *Hpa I* uniquement
- C) *Sma I* uniquement
- D) *BamH I* uniquement
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Vous avez identifié une nouvelle mutation (★) présente à l'état hétérozygote dans l'intron 3 de votre gène d'intérêt. Pour vérifier l'effet de ce variant sur l'épissage de votre ARNm d'intérêt vous effectuez une extraction d'ARN suivie de la synthèse d'un ADN complémentaire (ADNc) correspondant.

Vous avez ensuite amplifié, par PCR, cet ADNc en utilisant différents couples de primers (3 stratégies différentes).



Les produits PCR obtenus sont analysés sur un gel d'agarose par migration électrophorétique.

M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : Produit PCR obtenu, avec la stratégie PCR n°1, à partir d'un individu contrôle non muté

Piste 2 : Produit PCR obtenu, avec la stratégie PCR n°1, à partir de l'individu porteur de la mutation

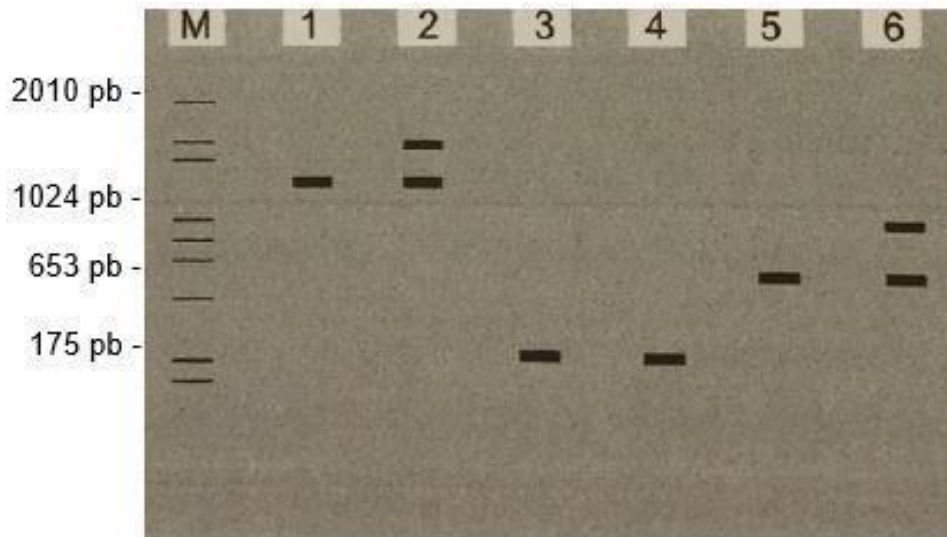
Piste 3 : Produit PCR obtenu, avec la stratégie PCR n°2, à partir d'un individu contrôle non muté

Piste 4 : Produit PCR obtenu, avec la stratégie PCR n°2, à partir de l'individu porteur de la mutation

Piste 5 : Produit PCR obtenu, avec la stratégie PCR n°3, à partir d'un individu contrôle non muté

Piste 6 : Produit PCR obtenu, avec la stratégie PCR n°3, à partir de l'individu porteur de la mutation

Représentation schématique du gel d'électrophorèse obtenu après migration des produits PCR :



Concernant l'interprétation du gel, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La mutation identifiée n'a pas d'effet sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt
- B) La stratégie PCR n°2 utilisée permet de déterminer l'effet de la mutation sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt
- C) La mutation identifiée a un effet sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt
- D) La stratégie PCR n°3 utilisée permet de déterminer l'effet de la mutation sur l'épissage de l'ARNm d'intérêt
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous recevez en consultation une famille dans laquelle se transmet une maladie autosomique récessive. Le gène est connu, la mutation responsable est la mutation c.3G>T à l'état homozygote.

Quelle(s) est(sont) la ou les conséquence(s) de la présence de cette mutation à l'état homozygote ? Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La présence de la mutation empêche la synthèse de la protéine en inhibant le codon d'initiation de la traduction
- B) La présence de la mutation n'a pas d'effet sur la synthèse protéique
- C) La présence de la mutation bloque la transcription en ARNm
- D) La présence de la mutation induit la synthèse d'une protéine de plus grande taille en inhibant le codon Stop de la traduction
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 6 : Vous recherchez la présence d'une mutation dans un gène connu par PCR suivie d'un séquençage.

Concernant le choix des primers utilisés, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s)

- A) Les primers utilisés par la PCR, et ceux utilisés pour le séquençage, peuvent être identiques
- B) Les primers utilisés pour le séquençage peuvent encadrer ceux utilisés pour la PCR
- C) Un seul primer peut être utilisé pour la PCR
- D) Les primers utilisés pour le séquençage peuvent s'hybrider à l'intérieur de la région amplifiée par la PCR
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Vous suspectez dans une famille la présence de la mutation c.773A>G responsable d'une maladie autosomique récessive. Pour déterminer la présence de cette mutation, vous réalisez une PCR suivie d'une digestion enzymatique. La séquence d'un allèle sain encadrant la position 773 (soulignée) est :

TCAATGGACCCTAG

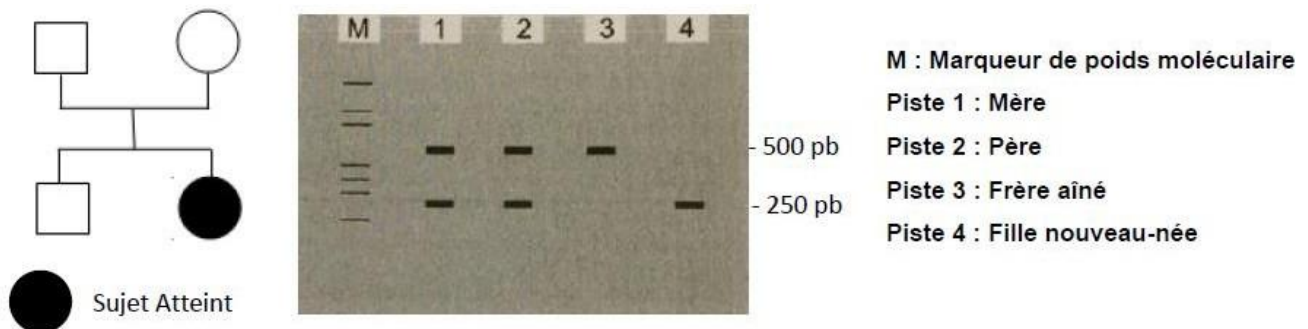
Pour déterminer le génotype des différents membres de la famille, vous utilisez l'enzyme de restriction *Sma I* dont le site de restriction est : GGGCCC.

Le fragment amplifié a une taille de 500 paires de base (pb).

Lorsque la mutation est présente, le produit PCR est digéré par *Sma I* en 2 fragments de 250 pb.

Le gel ci-dessous est obtenu après digestion par *Sma I* des produits d'amplification réalisés à partir de prélèvements sanguins des différents membres de cette famille.

Les produits de digestion sont séparés sur gel d'agarose par migration électrophorétique.



Concernant l'interprétation du gel, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Tous les membres de cette famille sont porteurs d'au moins un allèle muté c.773A>G
- B) Le fils n'est pas porteur de la mutation c.773A>G, la fille nouveau-née est porteuse de cette mutation à l'état homozygote
- C) Les parents sont tous les deux porteurs de la mutation c.773A>G à l'état homozygote
- D) Les parents sont tous les deux porteurs de la mutation c.773A>G à l'état hétérozygote
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 8 : Concernant la définition et les caractéristiques d'un gène, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Un gène de classe I code pour une protéine
- B) Les mutations siègent toujours dans les régions codantes d'un gène
- C) Un gène correspond à une séquence d'ADN codant pour un ARN fonctionnel
- D) La séquence d'un gène est identique chez tous les individus d'une même espèce
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction :**2015****QCM 1 : B**

- A) Faux : l'enzyme de restriction serait plus utilisée pour **identifier une mutation en particulier** et chercher une **mutation ciblée** (comme dans le cas de l'achondroplasie par exemple)
B) Vrai
C) Faux : ici, on veut étudier les gènes et non pas rechercher la présence d'un **variant d'épissage** par exemple
D) Faux : ici, on ne cherche pas à **quantifier un fragment d'ADN** ou à **déterminer le nombre de copies d'un gène** (charge virale en virologie)
E) Faux

QCM 2 : E

- A) Faux : ce sont des enzymes qui permettent de **couper l'ADN double brin**
B) Faux : ce sont des enzymes qui catalysent la **formation d'une liaison phosphodiester** entre 2 segments d'ADN
C) Faux : ce sont des enzymes capables de **couper les nucléotides situés aux extrémités** des fragments
D) Faux : ce sont des enzymes capables de **couper les nucléotides au milieu d'une chaîne**
E) Vrai : ce sont des **polymérases**

QCM 3 : D

BamH I clive le fragment s'il contient la mutation → *G en position 323 (GGATCC)*, aucune autre enzyme ne peut reconnaître la séquence entourant la position nucléotidique 323, qu'elle soit saine ou mutée

QCM 4 : CD

- A) Faux : au niveau des pistes 2 et 6, on observe la présence d'un **produit PCR plus lourd 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) Faux : car la piste 3 (*individu contrôle non muté*) et la piste 4 (*individu porteur de la mutation*) sont identiques
C) Vrai : cf. A)
D) Vrai : cf. A)
E) Faux

QCM 5 : A (confirmé par la Prof)

- A) Vrai : la mutation entraîne des **conséquences sur le codon initiateur de la traduction** (AUG → AUT)
B) Faux : la mutation a un effet sur la synthèse protéique étant donné qu'elle bloque l'initiation de la traduction
C) Faux : la transcription (assurée par la TATA Box, etc...) n'est **pas bloquée**
D) Faux : cf. A) et B)
E) Faux

QCM 6 : AD (confirmé par la Prof)

- A) Vrai
B) Faux : c'est le contraire ; les primers utilisés pour la PCR peuvent encadrer ceux utilisés pour le séquençage
C) Faux : On utilise **2 primers pour la PCR** et **1 primer pour le séquençage**
D) Vrai

Commentaire de la Prof : Les primers de PCR et de séquençage peuvent être identiques. Par contre, si ce n'est pas le cas, ceux utilisés pour le séquençage doivent obligatoirement se situer à l'intérieur de la région amplifiée de PCR.
E) Faux

QCM 7 : BD

La digestion par *Sma I* entraîne **2 fragments de 250 pb** lorsque la mutation c.773A>G est détectée

→ **Piste 1** : Il y a 2 fragments (500 + 250 pb)

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

→ **Piste 2** (*même principe que pour la mère*) : Le père est **hétérozygote porteur** de la mutation

→ **Piste 3** : Il y a un seul fragment (500 pb)

L'enzyme n'a fonctionné sur aucun des allèles donc le fils est **homozygote non porteur** de la mutation

→ **Piste 4** : Il y a un seul fragment (250 pb)

L'enzyme a fonctionné sur les deux allèles (*qui sont ici les allèles mutés*) donc la fille est **homozygote porteuse** de la mutation

QCM 8 : C (*confirmé par la Prof*)

A) Faux : Ce sont les **gènes de classe II**

B) Faux : On peut aussi retrouver des mutations dans les **introns**

C) Vrai : Les ARNr et les ARNt par exemple sont des ARN fonctionnels ; ils ont une fonction dans la cellule même s'ils ne codent pas pour une protéine (*explication donnée par la Prof*)

D) Faux : à cause du **polymorphisme génétique** et des **variations alléliques**

E) Faux

5. Annales 2014

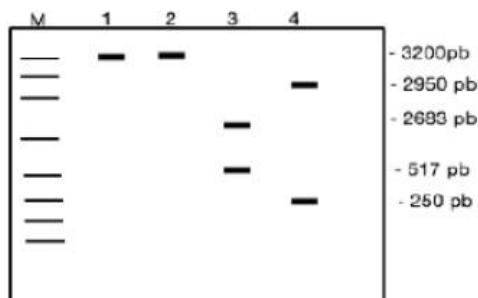
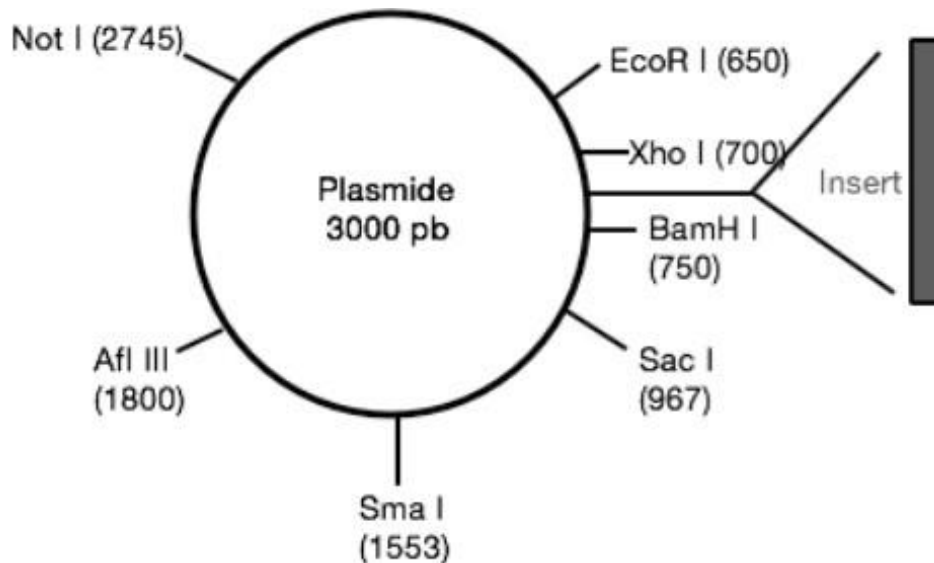
2014

QCM 1 : Lors d'une réaction de PCR, quel est le rôle de la Taq polymérase ?

- A) La Taq polymérase est une enzyme qui rend l'ADN génomique simple brin en cassant les liaisons hydrogène
- B) La Taq polymérase est une enzyme qui permet de synthétiser un brin complémentaire d'ADN simple brin
- C) La Taq polymérase est une enzyme qui permet l'hybridation des amorces
- D) La Taq polymérase est une enzyme qui permet de couper l'ADN double brin
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Vous réalisez un clonage suivi d'une carte de restriction pour vérifier l'ADN recombinant que vous avez obtenu.

La carte de restriction est schématisée ci-dessous. Seules les positions des sites de coupures pour les enzymes de restriction ne coupant qu'une seule fois sont figurées. Les sites de restriction reconnus par les enzymes *EcoR I*, *Sac I*, *Xho I* et *BamH I* ne sont pas présents dans l'insert (pb = paires de bases). Les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.



M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : ADN recombinant digéré par l'enzyme de restriction *EcoRI*

Piste 2 : ADN recombinant digéré par l'enzyme de restriction *Sac I*

Piste 3 : ADN recombinant digéré par les enzymes de restriction *EcoRI* et *Sac I*

Piste 4 : ADN recombinant digéré par les enzymes de restriction *Xho I* et *BamH I*

Suite à l'interprétation du gel, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) concernant l'ADN recombinant analysé :

- A) Plasmide sans insert
- B) Plasmide avec insert de 250 pb
- C) Plasmide avec insert de 517 pb
- D) Plasmide avec insert de 200 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Vous recherchez une mutation dans le gène X par PCR suivie d'un séquençage des exons et des jonctions exon / intron de ce gène. Vous suspectez la présence d'un variant d'épissage. Pour vérifier la présence de ce variant d'épissage, quelle(s) technique(s) pouvez-vous utiliser ?

- A) Une extraction d'ARN suivie d'une PCR quantitative
- B) Le séquençage direct de l'ARN
- C) Une PCR à partir de l'ADNc synthétisé suivie d'une réaction de séquençage
- D) Une PCR, à partir d'ARNm purifiés, suivie d'une digestion enzymatique avec une enzyme de restriction
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Concernant la technique de PCR en temps réel, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La PCR en temps réel permet d'amplifier une région spécifique d'ADN
- B) Les produits PCR générés sont quantifiés après 40 cycles d'amplification et dépôt sur gel d'agarose
- C) L'incorporation d'un agent intercalant permet de quantifier les produits PCR synthétisés
- D) La PCR en temps réel est une technique quantitative
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous recherchez dans une famille, dans laquelle se transmet une maladie autosomique dominante, la présence de la mutation c.2350 A>G dans le gène responsable. Vous réalisez une PCR suivie d'une digestion enzymatique. La séquence d'un sujet contrôle sain encadrant position 2350 (soulignée) est :

TTACTGGATCCGTG

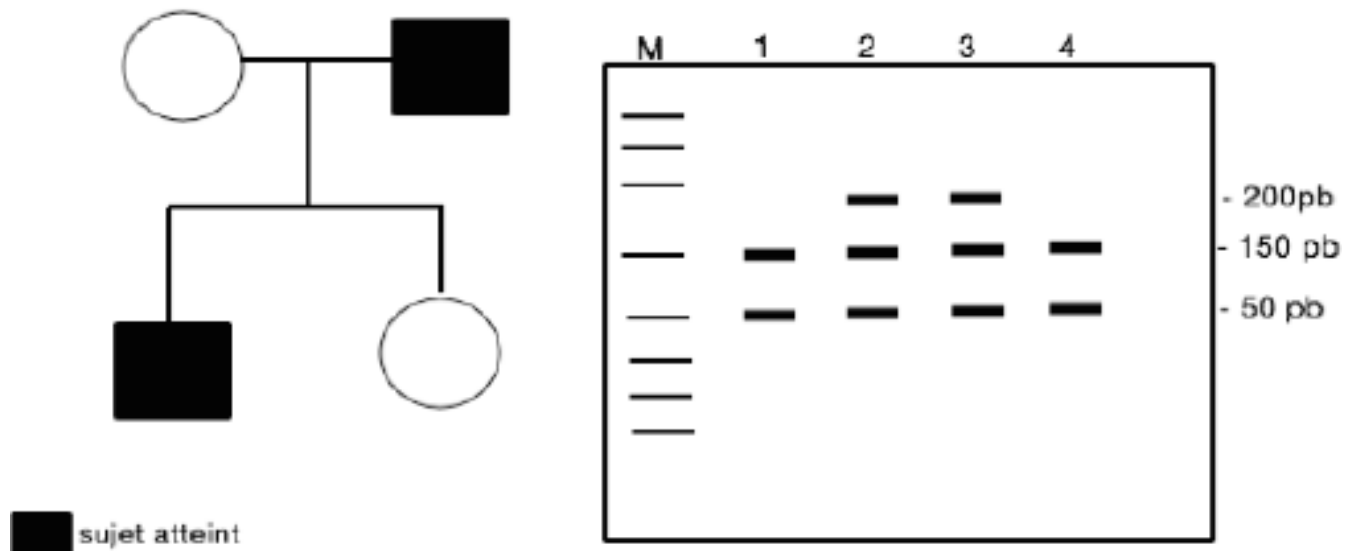
Pour déterminer le génotype des différents membres de la famille, vous utilisez l'enzyme de restriction *BamH I* dont le site de restriction est : GGATCC.

Le fragment amplifié a une taille de 200 paires de bases (pb).

La digestion par *BamH I* entraîne deux fragments à 150 pb et 50 pb après digestion *BamH I* chez un sujet contrôle sain.

Le gel ci-dessous est obtenu après digestion par *BamH I* des produits d'amplification réalisés à partir des prélèvements sanguins de différents membres de cette famille.

Les produits de digestion sont séparés sur gel d'agarose après migration électrophorétique.



M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : Mère

Piste 2 : Père

Piste 3 : Frère aîné

Piste 4 : Fille nouveau-née

Concernant l'interprétation du gel, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Aucun membre de cette famille n'est porteur de la mutation c.2350A>G
- B) La mère et la fille sont porteuses de la mutation c.2350A>G à l'état hétérozygote, le père et le fils ne sont pas porteurs de cette mutation
- C) Les parents sont porteurs de la mutation c.2350A>G à l'état hétérozygote, les enfants ne sont pas porteurs de cette mutation
- D) La mère et la fille ne sont pas porteuses de la mutation c.2350A>G, le père et le fils sont porteurs de la mutation à l'état hétérozygote
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 6 : Concernant la recherche d'une mutation causale dans une famille par PCR et séquençage, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le diagnostic peut être réalisé à partir des globules rouges des patients
- B) Le diagnostic peut être réalisé à partir de biopsies tissulaires des patients
- C) Le diagnostic peut être réalisé à partir de prélèvements sanguins réalisés sur tubes EDTA
- D) La confirmation du diagnostic nécessitera la réalisation d'un caryotype
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Concernant l'achondroplasie, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le diagnostic est souvent évoqué sur signe d'appel échographique en cours de grossesse
- B) La confirmation du diagnostic en cours de grossesse entraîne toujours une IMG (interruption médicale de grossesse)
- C) La confirmation du diagnostic en cours de grossesse repose sur la mesure des fémurs du fœtus
- D) Les parents d'un enfant porteur d'une achondroplasie ont toujours une taille normale car la maladie se transmet selon un mode autosomique récessif
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 8 : Concernant la technique de PCR (amplification en chaîne polymérase), indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Elle fonctionne quel que soit le type de l'ADN polymérase utilisée
- B) Elle est de faible sensibilité
- C) Elle présente peu de risque de contamination
- D) Elle nécessite de connaître la totalité de la séquence d'ADN à amplifier
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction :**2014****QCM 1 : B**

- A) Faux : c'est sous l'action de la **chaleur** (95°), lors de l'étape de **dénaturation**, que les liaisons hydrogène se cassent
B) Vrai
C) Faux : la Taq polymérase agit durant l'étape d'**élongation** et non d'hybridation
D) Faux : c'est le rôle des **enzymes de restriction**
E) Faux

QCM 2 : D

→ **Piste 1** : *EcoR* / coupe en position 650

Si on coupe uniquement à cette endroit, on ne fait « **qu'ouvrir** » le plasmide.

Or, le plasmide fait 3000 pb, donc s'il a intégré un insert, suite à la digestion enzymatique, on obtiendra un fragment forcément plus grand !

Ici, le fragment obtenu sur la piste 1 fait 3200 pb ; l'insert fait alors $3200 - 3000 = \mathbf{200\text{ pb}}$

→ **Piste 2** (*même principe que EcoR*) : *Sac* / coupe en position 967

Ici, le fragment obtenu sur la piste 2 fait encore 3200 pb ; l'insert fait alors **200 pb**

→ **Piste 3** : *EcoR* / coupe en position 650 et *Sac* / coupe en position 967

L'insert, s'il est intégré, se retrouvera au niveau du petit fragment de plasmide de $967 - 650 = 317\text{ pb}$

Sur l'électrophorèse, on obtient un grand fragment de 2683 pb et un petit fragment de 517 pb

L'insert, inséré au niveau du petit fragment, fait alors $517 - 317 = \mathbf{200\text{ pb}}$

→ **Piste 4** (*même principe que pour la piste 3*) : *Xho* / coupe en position 700 et *BamH* / coupe en position 750

L'insert, s'il est intégré, se retrouvera au niveau du petit fragment de plasmide de $750 - 700 = 50\text{ pb}$

Sur l'électrophorèse, on obtient un grand fragment de 2950 pb et un petit fragment de 250 pb

L'insert, inséré au niveau du petit fragment, fait alors $250 - 50 = \mathbf{200\text{ pb}}$

QCM 3 : C

- A) Faux : on ne peut pas amplifier l'ARN directement par PCR ; il faut passer par l'**ADNc** ici
B) Faux : on ne séquence pas l'ARN, on passe par l'**ADNc** si on veut vérifier la présence d'un variant d'épissage
C) Vrai
D) Faux : pas de PCR à partir de l'ARNm, mais à partir de l'**ADNc**
E) Faux

QCM 4 : ACD

- A) Vrai
B) Faux : c'est pour la **PCR classique**
C) Vrai
D) Vrai
E) Faux

QCM 5 : D

La digestion par *BamH* / 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 2 fragments (150 + 50 pb)

L'enzyme a fonctionné sur les 2 allèles (*vu qu'il n'y a que 2 fragments*) donc la mère est **homozygote non porteuse** de la mutation

→ **Piste 2** : Il y a 3 fragments (200 + 150 + 50 pb)

L'enzyme n'a fonctionné que sur un des allèles (*qui est ici l'allèle sain*), donc le père est **hétérozygote porteur** de la mutation

→ **Piste 3** (*même principe que pour le père*) : Le fils est **hétérozygote porteur** de la mutation

→ **Piste 4** (*même principe que pour la mère*) : La fille est **homozygote non porteuse** de la mutation

QCM 6 : BC

- A) Faux : les globules rouges ne possèdent pas de noyaux, donc **pas d'ADN**
B) Vrai
C) Vrai
D) Faux : on nous parle de recherche de mutation par *PCR-Séquençage*, donc de **maladie génique** ; le caryotype est donc inutile ici (*étant donné qu'il n'a d'intérêt que pour les maladies chromosomiques*)
E) Faux

QCM 7 : A

- A) Vrai
- B) Faux
- C) Faux : le diagnostic est confirmé par **analyse moléculaire** et **séquençage du gène FGFR3** qui code pour un récepteur de facteur de croissance fibroblastique
- D) Faux : pas toujours (90% des cas), et la maladie se transmet selon un mode autosomique dominant**
- E) Faux

QCM 8 : E

- A) Faux : on a besoin de la **Taq polymérase** (*polymérase d'origine bactérienne et résistante à la chaleur*)
- B) Faux : de **forte** sensibilité
- C) Faux : risque **élevé** de contamination
- D) Faux : on a juste besoin de connaître une séquence d'une vingtaine de nucléotides en amont de la région d'intérêt (= **borne d'amont**) et de même en aval (= **borne d'aval**)
- E) Vrai**

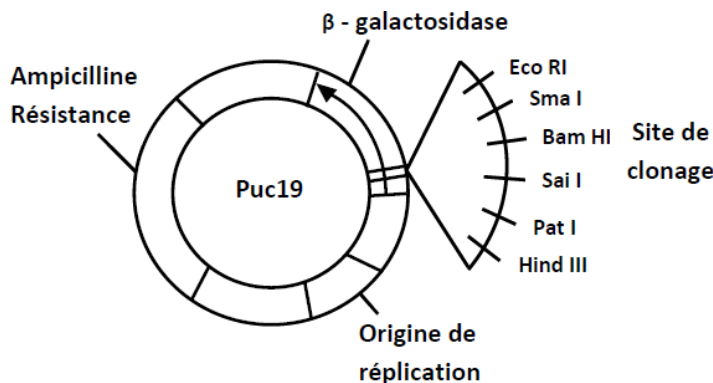
6. Annales 2013

2013

QCM 1 : Concernant l'achondroplasie, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le diagnostic ne peut pas être suspecté avant la naissance
- B) Dans 90% des cas, les parents des enfants atteints de cette maladie sont porteurs sains
- C) Le gène impliqué dans cette maladie code pour le récepteur d'un inhibiteur de la croissance fibroblastique
- D) La macrocéphalie est associée à un retard mental
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Vous réalisez le clonage d'un produit PCR. La carte du plasmide utilisé (pUC19) est schématisée ci-dessous.



Après transformation bactérienne et étalement des bactéries sur la boîte de pétri LB-Agar contenant de l'ampicilline, de l'X-gal et de l'IPTG, quelles colonies bactériennes allez-vous tester ?

- A) Les colonies bleues uniquement
- B) Les colonies blanches uniquement
- C) Toutes les colonies
- D) Aucune, puisque les colonies ne se développent pas
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Concernant l'activité des enzymes de restriction de type II, donnez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Elles dégradent l'ADN et l'ARN
- B) Elles synthétisent un brin complémentaire
- C) Elles coupent l'ADN double brin quelle que soit la séquence nucléotidique
- D) Elles coupent l'ADN double brin après reconnaissance d'une séquence nucléotidique spécifique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Vous examinez un patient qui présente une anémie. Vous suspectez une maladie génique de transmission autosomique récessive. Le gène responsable est connu et la maladie est toujours liée à la même mutation quels que soient les patients. Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Vous demandez un caryotype pour confirmer votre diagnostic
- B) Vous demandez un prélèvement sanguin sur héparine pour réaliser une étude génétique
- C) Vous demandez un prélèvement sanguin sur EDTA pour réaliser une étude génétique
- D) Vous demandez une analyse moléculaire pour confirmer votre diagnostic
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous souhaitez réaliser un diagnostic moléculaire à partir d'un prélèvement sanguin. A partir de quel(s) constituant(s) sanguin(s) allez-vous extraire l'ADN génomique ? Donnez-la ou les réponse(s) exacte(s)

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

QCM 6 : Vous suspectez un diagnostic d'achondroplasie chez un petit garçon qui vient de naître. Pour confirmer ce diagnostic, vous avez amplifié un fragment du gène FGFR3 à partir de l'ADN des 2 parents et des 2 enfants de cette famille. Le fragment amplifié a une taille de 164 paires de bases (pb) et comporte le nucléotide qui s'avère être muté (en position c.1138) en cas d'achondroplasie.

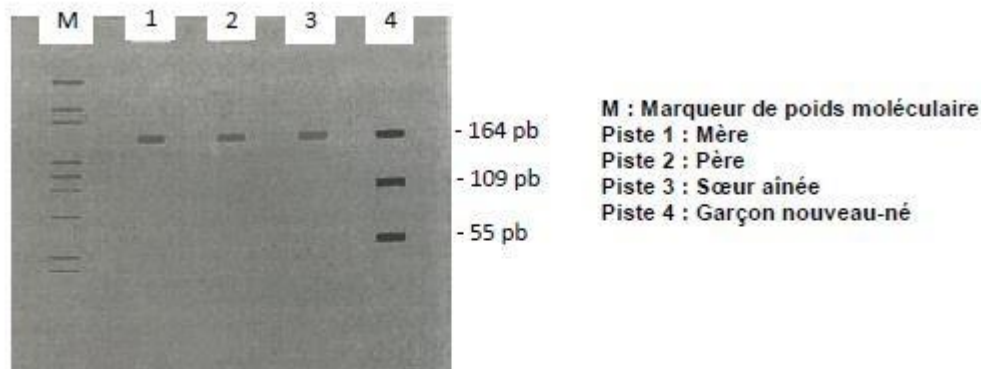
En l'absence de mutation, le fragment amplifié n'est pas digéré par les enzymes de restrictions utilisées.

La présence de la mutation c.1138G>A entraîne la coupure de l'amplicon par *Bfm I* en 2 fragments de 55 et 109 paires de bases.

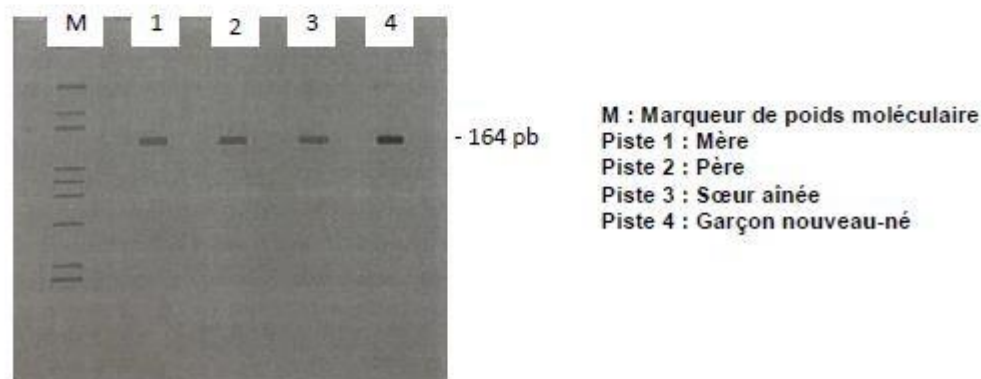
La présence de la mutation c.1138G>C entraîne la coupure de l'amplicon par *Hpa II* en 2 fragments de 55 et 109 paires de bases.

Les gels ci-dessous sont obtenus après digestion des produits d'amplification par *Bfm I* (gel du haut) et *Hpa II* (gel du bas) et migration électrophorétique.

Résultats après digestion par *Bfm I* ci-dessous :



Résultats après digestion par *Hpa II* ci-dessous :



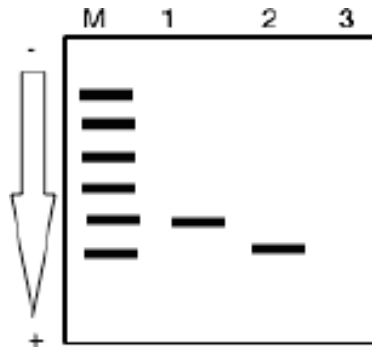
Concernant l'interprétation des gels, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s)

- A) Les parents sont hétérozygotes pour la mutation c.1138G>A
- B) Le diagnostic d'achondroplasie est confirmé chez l'enfant atteint
- C) Le diagnostic d'achondroplasie n'est pas confirmé chez l'enfant atteint
- D) Les parents sont hétérozygotes pour la mutation c.1138G>C
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Dans le cadre d'une suspicion de pathologie monogénique, vous souhaitez rechercher la ou les mutation(s) causale(s) dans le gène responsable. Concernant les techniques que vous pouvez être amenés à utiliser, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Extraction d'ADN
- B) Western-Blot
- C) PCR-RFLP
- D) PCR-Séquençage
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 8 : Le gel suivant correspond à l'analyse d'un produit d'amplification obtenu à partir de l'ADN de 2 patients différents.



M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : Patient A

Piste 2 : Patient B

Piste 3 : Témoin négatif d'amplification

Concernant l'interprétation de ce gel, donnez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La taille du produit d'amplification obtenu à partir du patient A est supérieure à celle du produit d'amplification obtenu à partir du patient B
- B) Le résultat de la piste 3 permet d'éliminer la présence de contamination
- C) La taille du produit d'amplification obtenu à partir du patient A est inférieure à celle du produit d'amplification obtenu à partir du patient B
- D) La taille du produit d'amplification attendue étant celle du patient A, le patient B peut être porteur d'une délétion
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction :**2013****QCM 1 : E**

- A) Faux : le diagnostic peut être évoqué sur **signe d'appel échographique avant la naissance**, puis une **ponction de liquide amniotique** peut être faite pour permettre l'analyse de l'ADN du fœtus
- B) Faux : dans 90% des cas, les parents sont **sains et non porteurs** car c'est une maladie autosomique **dominante**
- C) Faux : le gène FGFR3 code pour le **récepteur d'un facteur de croissance fibroblastique** → *Quand il est muté, le facteur de croissance qui se fixe à ce récepteur ne peut plus agir*
- D) Faux : il n'y a **pas de retard mental** mais une **intelligence normale**
- E) Vrai

QCM 2 : B

- A) Faux : Les colonies bleues ont intégré un **vecteur sans insert** car le **gène codant pour la bêta-galactosidase** est **fonctionnel**, donc ces bactéries n'ont *pas d'intérêt* pour la suite de notre étude
- B) Vrai
- C) Faux : Uniquement les **colonies blanches**
- 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 3 : D

- A) Faux : Elles ne coupent que l'**ADN double brin**
- B) Faux : C'est le rôle de la **polymérase**
- C) Faux : Elles reconnaissent une **séquence palindromique spécifique**
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 4 : CD

- A) Faux : Le caryotype est **inutile** en cas de **maladie génique**, il n'a d'intérêt que dans les **maladies chromosomiques**
- B) Faux : Jamais de prélèvement sanguin sur héparine pour une étude génique (*problème pour la PCR par exemple*)
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 5 : ACD

Confirmé par la prof. Ce QCM est tombé au CC quand il n'y avait encore aucun cours sur le NGS, la réponse était alors uniquement C. Je suis allé parler à la prof, qui m'a dit que depuis que le séquençage haut débit est au programme, la réponse à ce genre de questions doit bien évidemment changer et qu'un éventuel énoncé sur ce point du cours serait très précis au concours pour éviter des ambiguïtés...

- A) Vrai : Le sérum est la phase aqueuse du sang (obtenu après coagulation) ; il ne contient certes pas les cellules du sang mais il contient tout de même de l'**ADN circulant de l'individu** (il n'y a en effet pas que l'ADN foetal circulant qui peut être retrouvé dans le sang d'une femme enceinte, nous avons tous des fragments de notre ADN qui circulent en quantités infimes dans notre sang mais que l'on peut très bien récupérer pour faire diverses séries d'analyses de biologie moléculaire, c'est un des enjeux majeurs en biopathologie aujourd'hui !)
- B) Faux : Les globules rouges ne possèdent pas de noyaux, donc **pas d'ADN**
- C) Vrai
- D) Vrai : Le plasma est la phase aqueuse du sang (obtenu sous anticoagulant après centrifugation du sang) ; il ne contient pas les cellules du sang mais **de l'ADN circulant** cf. A)
- E) Faux

QCM 6 : B

- A) Faux : Les parents sont **homozygotes pour l'allèle sauvage** (*fragment de 164 pb*) ; ils sont *non atteints*
- B) Vrai : L'enfant est bien atteint d'achondroplasie par la **mutation c.1138G>A** car l'enzyme **Bfm I** a coupé le fragment de 164 pb en deux fragments (109 + 55 pb)
- C) Faux : Voir B)
- D) Faux : Voir A)
- E) Faux

QCM 7 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : Le Western-Blot est utilisé pour étudier l'expression des **protéines**
- C) Faux : La PCR-RFLP est utilisée pour **identifier une mutation en particulier** ; on cherche une **mutation ciblée** (*comme dans le cas de l'achondroplasie par exemple*)
- D) Vrai
- E) Faux

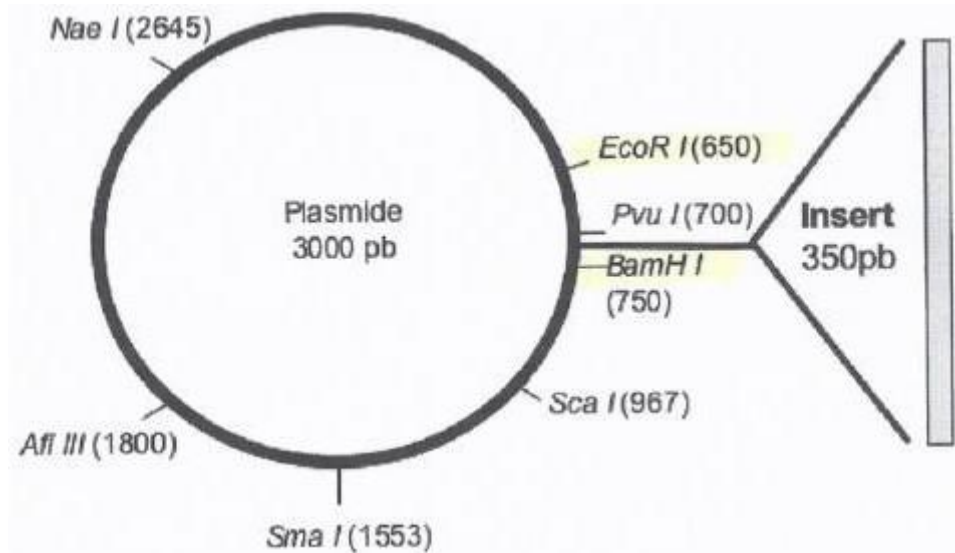
QCM 8 : ABD

- A) Vrai : Le fragment du patient A migre **moins loin** que le fragment du patient B, donc il est **plus lourd**
- B) Vrai : Car il n'y a **pas de bande** dans la piste 3 du témoin négatif
- C) Faux : Voir A)
- D) Vrai : Le fragment attendu étant celui du patient A, et le fragment B étant **plus léger**, celui-ci pourrait être porteur d'une **délétion** (*perte de nucléotides*)
- E) Faux

7. Annales 2012

2012

QCM 1 : 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, seules les positions des sites de coupures pour les enzymes de restrictions ne coupant qu'une seule fois sont figurés (pb = paires de bases).



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

- A) Plasmide sans insert : 100 pb + 2900 pb
- B) Plasmide avec insert : 3000 pb + 350 pb
- C) Plasmide avec insert : 2900 pb + 450 pb
- D) Plasmide sans insert : 3000 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

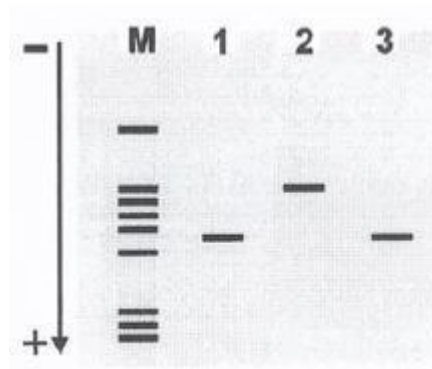
QCM 2 : Concernant l'achondroplasie, quelle est la réponse exacte ?

- A) Un enfant atteint à toujours un parent atteint
- B) C'est une pathologie qui associe un nanisme à un retard mental
- C) C'est une pathologie qui est liée à la même mutation quel que soit le malade
- D) Le gène responsable code pour une protéine qui inhibe la croissance fibroblastique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : La réaction PCR permet d'obtenir en grande quantité un fragment d'ADN donné. Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) concernant les principales étapes de la PCR :

- A) Clivage, élongation, ligation
- B) Dénaturation, ligation, élongation
- C) Dénaturation, hybridation, élongation
- D) Dégradation, hybridation, élongation
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Après migration électrophorétique, le gel ci-dessous est visualisé suite aux dépôts d'un marqueur moléculaire (M) et des produits d'amplification d'une région d'intérêt d'un gène, obtenus à partir d'un individu contrôle (1), d'un patient (2) et d'un témoin négatif de PCR (3).



Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le fragment amplifié à partir de l'ADN du patient est de taille supérieure à celui de l'individu contrôle
- B) Le fragment amplifié à partir de l'ADN du patient est de taille inférieure à celui de l'individu contrôle
- C) Votre résultat est interprétable
- D) La piste 3 correspond à une contamination
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous souhaitez quantifier un fragment d'ADN.

Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) concernant la ou les technique(s) utilisable(s) :

- A) PCR « classique »
- B) Clonage suivi d'une PCR « classique » et d'une réaction de séquence
- C) PCR « classique » suivie d'une réaction de séquence
- D) PCR en temps réel
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 6 : Concernant l'apport de la génétique moléculaire en pratique médicale, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Elle permet de réaliser un diagnostic prénatal pour un certain nombre de maladies rares
- B) Elle n'a aucun intérêt sur le plan thérapeutique
- C) Pour certaines maladies rares, elle permet de remplacer des examens invasifs par une simple prise de sang pour obtenir un diagnostic de certitude
- D) Elle n'a aucun intérêt pour le diagnostic prénatal car la technique comporte un risque de contamination trop important
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Vous recherchez dans une famille la présence de la mutation c.1240A>C par PCR, suivi d'une digestion enzymatique. La séquence d'un sujet contrôle sain encadrant la position 1240 (soulignée) est :

TTACTACAGGGGTG

Pour déterminer le génotype des différents membres de la famille, plusieurs enzymes de restrictions sont à votre disposition :

***Alu I* dont le site de restriction est : AGCT**

***Hpa II* dont le site restriction est : CCGG**

***Bfm I* dont le site de restriction est : CTACAG**

***BamH I* dont le site de restriction est : GGATCC**

Concernant les enzymes de restrictions que pouvez-vous utiliser ? Indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Deux enzymes sont utilisables : *Alu I* et *BamH I*
- B) Deux enzymes sont utilisables : *Bfm I* et *Hpa II*
- C) Aucune de ces 4 enzymes n'est utilisable
- D) Deux enzymes sont utilisables : *Alu I* et *Hpa II*
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 8 : Vous réalisez le clonage du gène codant pour la bêta-galactosidase dans le plasmide pBluescriptII qui contient un gène de résistance à l'ampicilline. Les ADN recombinants sont introduits dans les bactéries compétentes par choc thermique. On met ensuite les bactéries en culture sur boîte de pétri contenant de l'ampicilline. Concernant les bactéries qui vont se développer, indiquez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Aucune bactérie ne se développe
- B) Les bactéries contenant un plasmide avec insert se développent
- C) Toutes les bactéries se développent
- D) Les bactéries contenant un plasmide vide se développent
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction :**2012****QCM 1 : AC**

Le plasmide fait en tout **3000 pb**

L'enzyme de restriction *EcoR I* coupe en position 650 et l'enzyme de restriction *BamH I* coupe en position 750.

→ **Sans insert** : Après action de ces deux enzymes, on aura deux fragments :

- Un petit fragment de $750 - 650 = \mathbf{100 \text{ pb}}$
- Un grand fragment de $3000 - 100 = \mathbf{2900 \text{ pb}}$

L'insert est incorporé au niveau du « petit » fragment, c'est-à-dire au niveau du fragment de 100 pb.

→ **Avec insert** : Après action des enzymes de restriction, on aura deux fragments :

- Un petit fragment de $100 + 350 = \mathbf{450 \text{ pb}}$
- Un grand fragment inchangé de **2900 pb**

QCM 2 : E

A) Faux : **90%** des enfants atteints naissent de parents non atteints → **Mutations de novo**

B) Faux : il y a une **intelligence normale**

C) Faux : il y a **2 mutations possibles** au codon 380 (c.1138G>A ou c.1138G>C)

D) Faux : le gène FGFR3 code pour le **récepteur d'un facteur de croissance fibroblastique** → *Quand il est muté, le facteur de croissance qui se fixe à ce récepteur ne peut plus agir !*

E) Vrai

QCM 3 : C

Dénaturation (95°) → **Hybridation d'amorces** (55°) → **Elongation par la Taq polymérase** (72°)

QCM 4 : AD

A) Vrai : Le fragment du patient migre **moins loin** que le fragment de l'individu contrôle, donc il est **plus lourd**

B) Faux : cf. A)

C) Faux : il y a une bande dans la piste 3 du témoin négatif, donc il y a eu une **contamination** → *Le résultat n'est pas interprétable !*

D) Vrai : cf. C)

E) Faux

QCM 5 : D

A) Faux : la PCR « classique » est PCR **qualitative** qui permet d'**amplifier un fragment d'ADN** double brin ; la mesure de la fluorescence se fait seulement **après 35-40 cycles**

B) Faux : le clonage permet **de séparer 2 populations d'ADN** en vue d'un séquençage

C) Faux : la réaction de séquence est un séquençage reposant sur la méthode de Sanger permettant de **déterminer la séquence nucléotidique d'un brin d'ADN**

D) Vrai : La PCR en temps réel est une PCR **quantitative** permettant de **quantifier un fragment d'ADN** et de **déterminer le nombre de copies d'un gène** (*charge virale en virologie*)

E) Faux

QCM 6 : AC

A) Vrai

B) Faux : exemple du clonage d'expression pour obtenir une protéine insuline en grande quantité par génie génétique, etc...

C) Vrai

D) Faux : Elle a **beaucoup d'intérêt** pour le diagnostic prénatal ; le risque de contamination est réduit au maximum avec un *circuit monodirectionnel*, un *témoin négatif de PCR* et une *vérification de non contamination par migration électrophorétique*.

E) Faux

QCM 7 : B

Bfm I clive le fragment s'il ne contient pas la mutation → *A en position 1240 (CTACAG)*

Hpa II clive le fragment s'il contient la mutation → *C en position 1240 (CCGG)*

QCM 8 : BD

- A) Faux : le **plasmide** contenant un **gène de résistance à l'ampicilline**, si une bactérie l'intègre, elle pourra se développer sur la boîte de pétri contenant l'antibiotique.
- B) Vrai : elles se développent grâce au gène de résistance à l'ampicilline présent dans le plasmide.
- C) Faux : les bactéries qui n'ont **pas intégrées le plasmide** ne peuvent pas se développer ; elles meurent au contact de l'antibiotique.
- D) Vrai : cf. B)
- E) Faux

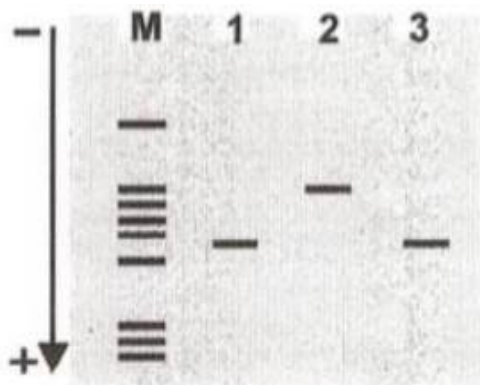
8. Annales 2011

2011

QCM 1 : La technique PCR (amplification en chaîne par la polymérase) ...

- A) Est basée sur l'utilisation d'une DNA polymérase qui fonctionne dans des organismes bactériens vivant dans des eaux froides
- B) Permet d'amplifier des fragments d'ADN dont la taille moyenne varie de 150 à 3000 paires de bases
- C) Nécessite de connaître la séquence nucléotidique de la totalité de la région d'ADN à amplifier
- D) Est une technique très sensible qui possède un risque majeur de contamination
- E) Repose sur 3 étapes successives incluant dénaturation de l'ADN, hybridation des amorces et élongation par la DNA polymérase

QCM 2 : Le gel ci-dessous correspond à l'analyse d'un produit d'amplification obtenu à partir de l'ADN de 2 patients différents.



M : Marqueur de poids moléculaire

Piste 1 : Patient A

Piste 2 : Patient B

Piste 3 : Témoin négatif d'amplification

Donnez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La taille du produit d'amplification obtenu à partir du patient A est supérieure à celle du produit d'amplification obtenu à partir du patient B
- B) La taille du produit d'amplification obtenu à partir du patient A est inférieure à celle du produit d'amplification obtenu à partir du patient B
- C) La taille du produit d'amplification attendue correspondant à celle du patient A, le patient B peut être porteur d'une insertion
- D) Le résultat de cette migration électrophorétique permet d'affirmer l'absence de contamination
- E) La migration électrophorétique permet une séparation des fragments d'ADN en fonction de leur séquence nucléotidique

QCM 3 : Une enzyme de restriction de type II ...

- A) Reconnaît et coupe une structure particulière de l'ADN double brin
- B) Reconnaît et coupe une séquence nucléotidique palindromique spécifique
- C) Reconnaît et coupe une séquence nucléotidique aléatoire
- D) Peut être utilisée pour détecter une mutation ponctuelle
- E) Possède une activité exonucléasique

QCM 4 : Le clonage d'un fragment d'ADN dans un plasmide ...

- A) Ne permet pas de différencier un allèle sauvage et un allèle muté à partir d'un même produit d'amplification PCR
- B) Nécessite la présence, au sein du plasmide, d'une origine de répllication bactérienne
- C) Nécessite la présence, au sein du plasmide, d'un gène de résistance à un antibiotique
- D) Nécessite une étape de ligation par une enzyme de restriction
- E) Permet l'obtention d'un ADN recombinant pur en grande quantité

QCM 5 : Vous êtes sollicité pour réaliser un diagnostic prénatal moléculaire car une achondroplasie a été suspectée sur signe d'appel échographique au cours d'une grossesse.

Donnez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Il n'y a pas d'indication à réaliser cet examen car les 2 parents sont de taille normale
- B) L'absence de la mutation responsable dans le sang maternel élimine ce diagnostic chez le fœtus
- C) L'existence d'un premier enfant normal chez le couple élimine ce diagnostic chez le fœtus
- D) Il n'y a pas d'indication à réaliser cet examen car le fœtus est de sexe masculin
- E) La majorité des enfants atteints naissent de parents non atteints suite à une mutation *de novo*

QCM 6 : Pour réaliser une protéine de fusion, avec une étiquette (Tag) en NH2-Terminal, à partir d'un ADN complémentaire codant pour la protéine X ...

- A) L'ADN complémentaire codant pour la protéine X doit posséder son propre ATG et son propre Stop
- B) L'ADN complémentaire codant pour la protéine X ne doit pas posséder son propre ATG mais doit posséder son propre Stop
- C) L'ADN complémentaire codant pour la protéine X doit être inséré en 5' de l'étiquette
- D) L'ADN complémentaire codant pour la protéine X doit être inséré en 3' de l'étiquette
- E) La traduction débutera à l'ATG de l'étiquette et se terminera au codon Stop de l'ADN complémentaire codant pour la protéine X

QCM 7 : Vous avez amplifié un fragment du gène FGFR3 à partir d'ADN extrait des leucocytes des 2 parents et d'un liquide amniotique, prélevé suite à une suspicion d'achondroplasie sur l'échographie fœtale.

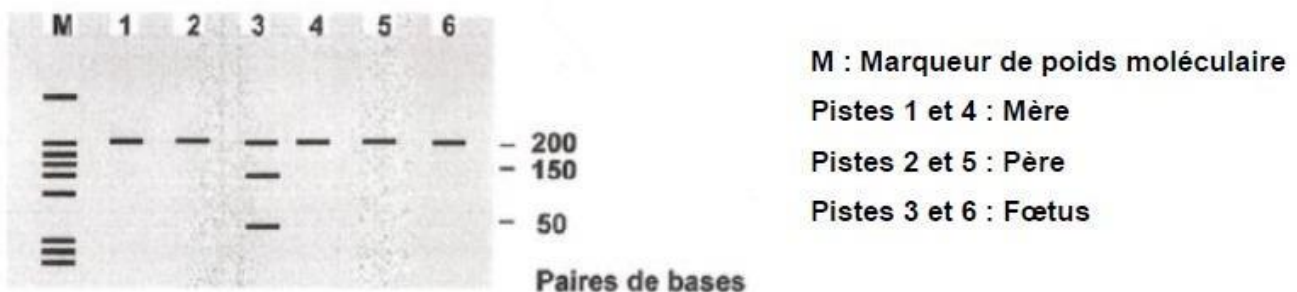
Le fragment amplifié a une taille de 200 paires de bases et comporte le nucléotide qui s'avère être muté (en position c.1138) en cas d'achondroplasie.

En l'absence de mutation, le fragment amplifié n'est pas digéré par l'enzyme de restriction utilisée.

La présence de la mutation c.1138G>A entraîne la coupure de l'amplicon par *Bfm I* en 2 fragments de 50 et 150 paires de bases.

La présence de la mutation c.1138G>C entraîne la coupure de l'amplicon par *Hpa II* en 2 fragments de 50 et 150 paires de bases.

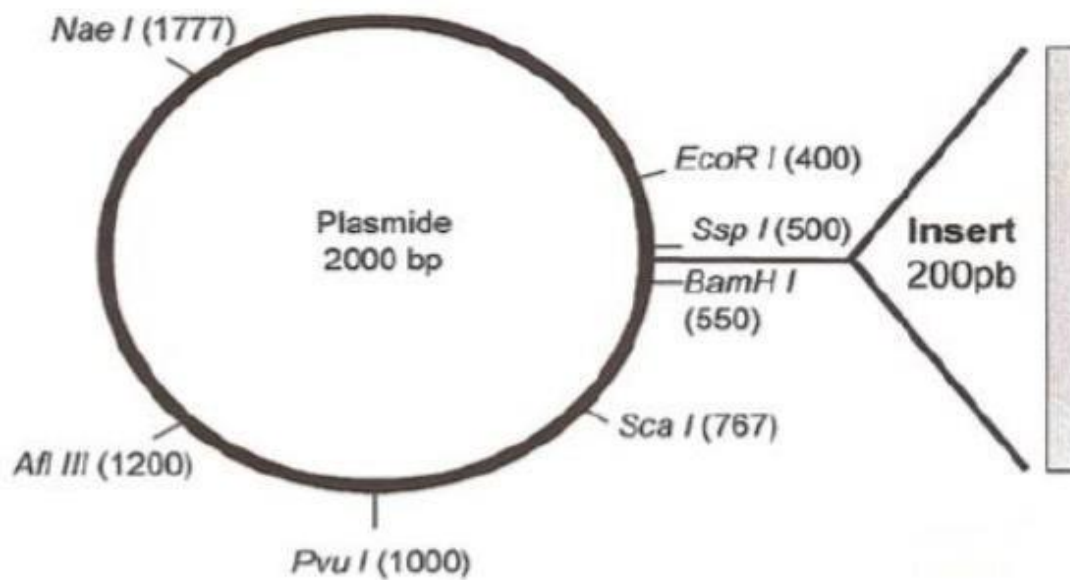
Le gel ci-dessous est obtenu après digestion des produits d'amplification par *Bfm I* (pistes 1 à 3) ou *Hpa II* (pistes 4 à 6) et migration électrophorétique.



Donnez-la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le fœtus n'est pas atteint d'achondroplasie
- B) Le fœtus est atteint d'achondroplasie par mutation c.1138G>A dans le gène FGFR3 à l'état hétérozygote
- C) Le fœtus est atteint d'achondroplasie par mutation c.1138G>C dans le gène FGFR3 à l'état hétérozygote
- D) Les parents sont porteurs de la mutation c.1138G>A dans le gène FGFR3 à l'état hétérozygote
- E) Les parents sont porteurs de la mutation c.1138G>C dans le gène FGFR3 à l'état hétérozygote

QCM 8 : Sur la carte de restriction du plasmide ci-dessous, seuls figurent les sites pour des enzymes de restriction ne coupant qu'une seule fois. La position nucléotidique est indiquée par les nombres entre parenthèses. Il n'y a pas de site *EcoR I* ou *Pvu I* dans l'insert.



En présence de l'insert, après double digestion enzymatique avec les enzymes *EcoR I* et *Pvu I*, les tailles attendues après migration sur gel sont ...

- A) 800 paires de bases + 1600 paires de bases
- B) 600 paires de bases + 1600 paires de bases
- C) 400 paires de bases + 1000 paires de bases + 1400 paires de bases
- D) 800 paires de bases + 1400 paires de bases
- E) 600 paires de bases + 200 paires de bases + 1400 paires de bases

Correction :**2011****QCM 1 : BDE**

- A) Faux : la Taq polymérase provient de bactéries vivant dans les **geysers d'eau chaude** ; elle est donc **résistante aux hautes températures** auxquelles se déroulent les trois étapes de la PCR (95°C, 55°C, et 60-72°C)
- B) Vrai
- C) Faux : On a juste besoin de connaître une séquence d'une vingtaine de nucléotides en amont de la région d'intérêt (= **borne d'amont**) et de même en aval (= **borne d'aval**)
- D) Vrai
- E) Vrai

QCM 2 : BC

- A) Faux : cf. B)
- B) Vrai : le fragment A **migre plus loin** que le fragment B, il est donc **plus léger**
- C) Vrai : le fragment attendu étant celui du patient A, et le fragment B étant **plus lourd**, celui-ci pourrait contenir une **insertion nucléotidique qui rallongerait ainsi sa séquence**
- D) Faux : Il y a une bande dans la piste 3 du témoin négatif, donc il y a eu une **contamination**
- E) Faux : elle sépare les fragments d'ADN en fonction de leur **taille** !

QCM 3 : BD

- A) Faux : elle reconnaît et coupe une **séquence** particulière de l'ADN double brin et non une structure d'ADN particulière !
- B) Vrai
- C) Faux : cf. B)
- D) Vrai
- E) Faux : Elle possède une activité **endonucléasique**.

QCM 4 : BCE

- A) Faux : C'est le but même du clonage moléculaire ; il permet de **séparer 2 populations** (sauvage et mutée par exemple) et d'obtenir des **quantités identiques pures** d'une séquence d'ADN donnée, **en grand nombre**, en vue d'un séquençage
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : C'est une ligation par la **T4 DNA ligase**
- E) Vrai

QCM 5 : E

- A) Faux : **90%** des enfants atteints naissent de parents non atteints → **Mutations de novo**
- B) Faux : cf. A)
- C) Faux : Une mutation *de novo* est toujours possible même après la naissance d'un enfant sain
- D) Faux : L'achondroplasie est une maladie **autosomique** (non liée à l'X) donc elle touche **indifféremment les hommes et les femmes** !
- E) Vrai

QCM 6 : BDE

- A) Faux : cf. B)
- B) Faux : pour placer un **Tag en N-term**, il ne faut pas oublier de **retirer le codon ATG** de l'ADN complémentaire codant pour la protéine X
- C) Faux : cf. D)
- D) Vrai : Tag en N-term de la protéine → **Étiquette en 5' de l'ADNc = ADNc en 3' de l'étiquette**
- E) Vrai

QCM 7 : B

- A) Faux : il y a **3 bandes** (200 + 150 + 50 pb) dans la piste 3, donc le foetus est **atteint d'achondroplasie** par mutation c.1138G>A à l'état **hétérozygote**
- B) Vrai : présence d'un **allèle sauvage** (fragment de 200 pb) et d'un **allèle muté** ayant subi l'action de **Bfm I** (fragments de 150 et 50 pb)
- C) Faux : cf. B)
- D) Faux : les parents sont **homozygotes pour l'allèle sauvage** (fragment de 200 pb) ; ils sont *non atteints*
- E) Faux : cf. D)

QCM 8 : D

Le plasmide fait en tout **2000 pb**.

L'enzyme de restriction *EcoR* I coupe en position 400 et l'enzyme de restriction *Pvu* I coupe en position 1000.

→ **Sans insert** : Après action de ces deux enzymes, on aura deux fragments :

- Un petit fragment de $1000 - 400 = \mathbf{600\text{ pb}}$
- Un grand fragment de $2000 - 600 = \mathbf{1400\text{ pb}}$

L'insert est incorporé au niveau du « petit » fragment, c'est-à-dire au niveau du fragment de 600 pb.

→ **Avec insert** : Après action des enzymes de restriction, on aura deux fragments :

- Un petit fragment de $600 + 200 = \mathbf{800\text{ pb}}$
- Un grand fragment inchangé de **1400 pb**