



# DEVOIR MAISON ANNATUT 2014/2015

## CORRECTION

### CCB tut rentrée 2

#### QCM 1 : ACD

- A) Vrai : Ce type cellulaire est utilisé lors d'un diagnostic pré natal
- B) Faux : Les GR matures ne possèdent pas de noyau (ni de mitochondries) donc pas d'ADN.
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

#### QCM 2 : B

- A) Faux : l'extraction se fait au **phénol chloroforme**
- B) Vrai
- C) Faux : la précipitation de fait à l'éthanol froid avec sel
- D) Faux : Il est très important d'inhiber les RNase endogène lorsque l'on manipule de l'ARN qui est très instable
- E) Faux

#### QCM 3 : E

- A) Faux : C'est l'objectif du séquençage. L'objectif de la PCR est l'amplification d'une séquence d'ADN d'intérêt.
- B) Faux : Les séquenceurs haut débit n'utilisent pas la méthode de Sanger.
- C) Faux : Pour séquencer un fragment d'ADN d'intérêt, une seule amorce est nécessaire. NB : Par contre, pour amplifier un fragment d'intérêt par PCR, 2 amorces sont nécessaires l'une située en amont et l'autre en aval du fragment à amplifier.
- D) Faux : Au labo, le circuit est monodirectionnel. L'expérimentateur suit un parcours « fléché » : une salle pour extraction, une salle pour mélange, une salle pour PCR, une salle post-PCR.
- E) Vrai

#### QCM 4 : BD

- A) Faux : L'objectif est que chaque vecteur intègre un seul insert.
- B) Vrai : Ces bactéries ne sont pas intéressantes car le but du clonage moléculaire est de multiplier l'insert. NB : Les bactéries ne contenant pas d'insert sont détectées et éliminées grâce au test blanc/bleu -> elles se colorent en bleu
- C) Faux : L'ARNm ne peut pas être intégré dans un plasmide. Il doit être transformé en ADN complémentaire avant d'être intégré au plasmide.
- D) Vrai
- E) Faux

#### QCM 5 : C

- A) Faux : On utilise un gel d'agarose DENATURANT
- B) Faux : Pour les protéines, on utilise un gel d'**acrylamide dénaturant**
- C) Vrai
- D) Faux : Pour greffer une étiquette en N-Term, il faut deux choses : couper le codon ATG et avoir une étiquette commençant par le codon ATG
- E) Faux

#### QCM 6 : AD

- A) Vrai : L'achondroplasie est provoquée par une mutation ponctuelle sur le codon 380 qui provoque le remplacement de la glycine par l'arginine. NB : En position 1138 du gène, le remplacement du G par un A ou un C provoque l'apparition du même AA (arginine)
- B) Faux : Leurs os ne sont pas fragiles
- C) Faux : Cette pathologie est dominante. De plus, elle est principalement liée à l'apparition de néomutations de l'embryon au moment de la fécondation.
- D) Vrai : Le diagnostic pré natal implique la réalisation d'une PCR (= utilisation d'une ADN polymérase) suivie d'une digestion enzymatique par les enzymes Bfml et Hpa II. Le diagnostic est confirmé par séquençage.
- E) Faux

**QCM 7 : BD**

- A) Faux : Il n'y a pas eu coupure de Bmfl, que ce soit chez les parents ou le fœtus
- B) Vrai
- C) Faux : Il faudrait vérifier qu'il n'a pas la mutation 1138 G>C
- D) Vrai : le Fragment 1 a migré moins loin, il est donc plus gros
- E) Faux

**QCM 8 : A**

**Données importantes : L'enzyme coupe en 1500 et en 1700. Le plasmide fait 3200 pb et l'insert 450 pb**

- A) Vrai : Lorsque l'enzyme coupe, on aura un premier morceau faisant  $1700 - 1500 = 200$  pb. L'autre morceau fera  $3200 - 200 = 3000$  pb
- B) Faux : L'insert s'insère au niveau du "gros morceau" de 3000 pb, donc lorsque l'on aura l'insert, on aura :  $200 \text{ pb} + 3450 \text{ pb}$
- C) Faux : Voir A
- D) Faux : Voir B
- E) Faux : Voir A ^^

# Tutorat 1

## QCM 1 : BC

- Le plasmide fait en tout 5600 pb - L'enzyme de restriction coupe en position 2900 - L'enzyme de restriction coupe en position 400 Après action de l'enzyme de restriction (sans insert), on aura deux fragments : - Un fragment de 2900 - 400 = 2500 paires de bases - Un fragment de 5600 - 2500 = 3100 paires de bases On peut voir sur les dessins que l'insert est inséré au niveau du "petit" fragment, c'est à dire au niveau du fragment de 2500 pb, donc après action de l'enzyme de restriction (avec insert), on aura deux fragments : - Le petit de 2500 + 500 = 3000 pb - Le gros de 3100 pb

## QCM 2 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : plus la molécule d'ADN possède de charge négative, plus elle est grosse. Or, ce sont les petites molécules qui migrent le plus loin (expliqué par les forces de frottement)
- C) Faux : la cathode est chargée négativement, l'ADN migre vers l'anode
- D) Vrai
- E) Faux

## QCM 3 : A, C et D

- A) Vrai : La ligase sert à hybrider l'insert et le vecteur qui forment l'ADN recombinant.
- B) Faux : elles sont d'origine bactérienne
- C) Vrai : l'ADN polymérase allonge le brin d'ADN dans le sens 5' -> 3'
- D) Vrai : elles coupent à l'intérieur d'une séquence reconnue
- E) Faux

## QCM 4 : BCD

- A) Faux : C'est une endonuclease, une exonuclease grignote les extrémités
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai : les fragments seront plus petits et migreront donc plus loin
- E) Faux

## QCM 5 : A

- A) Vrai : il a une mutation hétérozygote 1138G>C
- B) Faux
- C) Faux
- D) Faux : le signe d'appel est les femurs courts
- E) Faux

## QCM 6 : A

- A) Vrai
- B) Faux : C'est une ADN polymérase car elle synthétise un fragment d'ADN.
- C) Faux : Elle permet la formation d'un hybride ADNc/ARN. La RNase H est utilisée pour dégrader l'ARN de l'hybride -> on obtient un fragment d'ADNc simple brin. Ce fragment peut ensuite être transformé en ADN double brin et amplifié en réalisant une PCR.
- D) Faux : Le Northern blot est une technique qui permet de quantifier l'expression de l'ARN. En revanche, les techniques de PCR et de clonage peuvent être réalisées seulement sur de l'ADN. Quand le matériel de base est de l'ARN, l'utilisation d'une reverse transcriptase est nécessaire.
- E) Faux

## QCM 7 : A, C et D

- A) Vrai
- B) Faux : seules les bactéries ayant intégré le plasmide et l'insert présentent une coloration blanche. En effet, en s'insérant au niveau du polylinker dans le plasmide, l'insert déstructure le gène de la bêta galactosidase et empêche l'expression du gène de la bêta galactosidase.
- C) Vrai : les colonies qui se colorent en bleu expriment le gène de la bêta galactosidase contenu dans le plasmide. Or, le plasmide contient également le gène de résistance à l'ampicilline.
- D) Vrai : La coloration bleue est liée à la transformation du X gal par la bêta galactosidase, qui n'est exprimée que dans les bactéries possédant le plasmide vide.
- E) Faux

## QCM 8 : D

- A) Faux : Cette technique permet de quantifier un ADN d'intérêt.
- B) Faux : Cette technique permet l'étude de l'expression des ARN.
- C) Faux : Le clonage moléculaire permet de séparer et d'amplifier un ADN d'intérêt qui pourra ensuite être séquencé.
- D) Vrai
- E) Faux

## Tutorat 2

### QCM 1 : C

- Le plasmide fait en tout 3000 pb - L'enzyme de restriction coupe en position 300 - L'enzyme de restriction coupe en position 800 Après action de l'enzyme de restriction (sans insert), on aura deux fragments : - Un fragment de 800 - 300 = 500 paires de bases - Un fragment de 3000 - 500 = 2500 paires de bases On peut voir sur le dessin que l'insert est inséré au niveau du "petit" fragment, c'est à dire au niveau du fragment de 500 pb, donc après action de l'enzyme de restriction (avec insert), on aura deux fragments : - Le petit de 500 + 500 = 1000 pb - Le gros de 2500 pb

### QCM 2 : D

- A) Faux : le plus souvent c'est à partir d'ADN, mais on peut aussi le faire à partir de l'ARN
- B) Faux : ce sont des techniques très sensibles (la biostat est déjà tellement loin :P)
- C) Faux : le principal risque est le risque de **contamination**
- D) Vrai : elles sont applicables sur les cellules nucléées
- E) Faux : parce que la D est vrai ! :D

### QCM 3 : C

- A) Faux : L'extraction de l'ADN est réalisée grâce à une solution de phénol-chloroforme. La précipitation intervient lorsque de l'éthanol à 95° et des sels sont ajoutés à froid dans la phase aqueuse contenant l'ADN.
- B) Faux : Les globules rouges sont lysés et non dénaturés. En effet, ce ne sont pas des cellules nucléées, ils ne contiennent pas d'ADN. Rappel : Les ARNpolyA peuvent être extraits sur colonne d'oligo dT mais pas les ADN.
- C) Vrai :
- D) Faux : L'extraction en condition acide concerne l'ARN et non l'ADN
- E) Faux

### QCM 4 : A

- A) Vrai
- B) Faux : Lors de la phase de dénaturation, les liaisons hydrogènes entre les deux brins d'ADN sont rompues.
- C) Faux : L'étape d'hybridation des amorces se fait à 55°. Rappel : c'est l'étape de dénaturation qui se fait à 95°
- D) Faux : Il n'est pas nécessaire de connaître la séquence entière de l'ADN à amplifier. Rappel : il est nécessaire de connaître la séquence des amorces amont et aval.
- E) Faux

### QCM 5 : A, B et C

- A) Vrai : Chez les individus sains, le fragment d'intérêt sera clivé en 2 morceaux ; chez les individus présentant la mutation c.2130 G>A ou c.2130 G>T, le fragment d'intérêt ne sera pas clivé.
- B) Vrai : La séquence d'intérêt ne contient pas de site de clivage pour HpaII.
- C) Vrai : Chez les individus présentant la mutation c.2130 G>T le fragment d'intérêt sera clivé en 2 morceaux ; chez les individus sains, le fragment d'intérêt ne sera pas clivé.
- D) Faux : Une endonucléase qui coupe à l'intérieur d'une séquence d'ADN double brin sera nécessaire pour déterminer le génome des différents membres de la famille.
- E) Faux

### QCM 6 : A

- A) Vrai
- B) Faux : lorsqu'ils sont proches, le quencher inhibe la fluorescence du fluorophore.
- C) Faux : Rien à voir ^^ c'est la taq polymérase qui possède cette activité en + de l'activité 5'- polymérase
- D) Faux : elle se fixe durant la phase d'hybridation, et c'est lorsqu'elle est dégradée durant la phase d'élongation qu'apparaît la fluorescence
- E) Faux

### QCM 7 : C

- A) Faux : Les vecteurs sont des ADNs DOUBLES brins
- B) Faux : C'est le vecteur qui possède des gènes de sélection.
- C) Vrai : Les vecteurs de clonage sont destinés à séparer physiquement 2 populations d'ADN voire plus alors que les vecteurs d'expression expriment le gène d'intérêt dans des cellules eucaryotes (utilisé en recherche pour vérifier la pathogénicité d'une mutation)
- D) Faux : attention, la ligase recrée des liaisons phosphodiester peu importe si c'est entre l'insert et le vecteur ou si c'est sans l'insert, elle peut très bien refermer le vecteur sans avoir inséré l'insert !
- E) Faux

**QCM 8 : B**

A) Faux : C'est une mutation monogénique récessive

B) Vrai

C) Faux : Les exons avant le codon initiateur et après le codon stop ne sont pas codant

D) Faux : Exemple dans le cours, avec deux mutations à des endroits différents pour le père et la mère + celle au niveau de l'intron

E) Faux

**QCM 1 : A**

- Le plasmide fait en tout 3600 pb - L'enzyme de restriction coupe en position 1100 - L'enzyme de restriction coupe en position 3300 Après action de l'enzyme de restriction (sans insert), on aura deux fragments : - Un fragment de 3300 - 1100 = 2200 paires de bases - Un fragment de 3600 - 2200 = 1400 paires de bases On peut voir sur le dessin que l'insert est inséré au niveau du "petit" fragment, c'est à dire au niveau du fragment de 1400 pb, donc après action de l'enzyme de restriction (avec insert), on aura deux fragments : - Le petit de 1400 + 200 = 1700 pb - Le gros de 2200 pb

**QCM 2 : A et D**

- A) Vrai
- B) Faux : partie supérieure du tube à essai
- C) Faux : au fond du tube à essai
- D) Vrai
- E) Faux

**QCM 3 : A, C et D**

- A) Vrai
- B) Faux : Il est MONOdirectionnel
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

**QCM 4 : BC**

- A) Faux : Il est chargé négativement
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : Elles migrent le plus loin
- E) Faux

**QCM 5 : ACD**

- A) Vrai
- B) Faux : il s'agit bien d'une mutation 1138 G>A (car c'est Bmfl qui a agi) à l'état HOMOZYGOTE
- C) Vrai
- D) Vrai : il n'y a pas eu de contamination
- E) Faux

**QCM 6 : D**

- A) Faux
- B) Faux : il se lie à l'ADN double brin
- C) Faux : la fluorescence est mesurée à chaque PCR
- D) Vrai :
- E) Faux

**QCM 7 : D**

- A) Faux
- B) Faux
- C) Faux
- D) Vrai : BamHI permet de détecter les patients sains. HpaII permet de détecter les patients porteurs de la mutation
- E) Faux

**QCM 8 : ACD**

- A) Vrai : cela permet de rendre le séquençage plus rapide
- B) Faux : c'est avant la PCR que l'on met le code barre et l'adaptateur
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux