

### **DEVOIR MAISON ANNATUT 2014/2015**

### **CCB Tut rentrée 2**

# QCM 1 : Les outils de biologie moléculaire sont de plus en plus utilisés en thérapeutique. L'ADN d'un patient peut être extrait à partir :

- A) de cellules amniotiques
- B) de globules rouges matures
- C) de follicules pileux
- D) de tissus congelés
- E) les réponses A, B, C, et D sont fausses

#### QCM 2 : A propos de l'extraction d'ADN, donner la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'extraction à l'éthanol froid permet d'obtenir deux phases non miscible, avec l'ADN dans la phase supérieure
- B) L'ADN se situe dans la phase aqueuse
- C) La précipitation au phénol chloroforme nous permet d'obtenir une méduse d'ADN
- D) Avant de procéder à l'extraction, il est très important d'inhiber les Ribonucléases endogènes
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 3 : Concernant les outils de biologie moléculaire, indiquez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La PCR permet la détermination de l'enchaînement des nucléotides qui composent un fragment d'ADN d'intérêt
- B) Le principe du séquençage par la méthode de Sanger est aujourd'hui appliqué dans les séquenceurs haut débit
- C) Lors du séquençage, l'utilisation de 2 amorces est nécessaire, l'une située en amont et l'autre en aval du fragment à séquencer.
- D) La réalisation des techniques de polymérisation en chaîne nécessite un circuit pluridirectionnel.
- E) Les réponses A, B, C, et D sont fausses

#### QCM 4 : Lors de la transformation bactérienne, donner la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Un vecteur doit s'hybrider à plusieurs inserts
- B) Une bactérie peut intégrer un vecteur vide
- C) Une bactérie peut intégrer un vecteur contenant un ARN messager
- D) La séquence du vecteur est connue.
- E) Les réponses A, B, C, et D sont fausses

## QCM 5 : A propos des différentes études d'expression et protéines de fusion, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Dans le Northern-blot, les ARN sont séparés selon leur taille sur un gel d'agarose
- B) Dans le Western-blot, les protéines sont séparées en fonction de leur masse sur un gel d'agarose
- C) Les Tag (étiquette) peuvent être utilisés pour étudier la localisation d'une protéine
- D) Pour greffer une étiquette en N-Term, il ne faut pas oublier de retirer le codon stop de la molécule d'intérêt
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

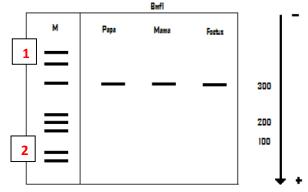
#### QCM 6 : Concernant l'achondroplasie, donner la ou les réponse(s) exacte(s)

- A) Elle est provoquée par le changement d'un seul acide aminé sur le récepteur d'un facteur de croissance fibroblastique des chondroblastes
- B) Les malades sont caractérisés par une petite taille et des os très fragiles
- C) La pathologie étant récessive, le diagnostic pré natal par les outils de biologie moléculaire est obligatoire dans les familles dès lors que l'un des membres est atteint.
- D) Le diagnostic pré natal à partir de cellules amniotiques implique l'utilisation d'une ADN polymérase et des enzymes de restriction.
- E) Les réponses A, B, C, et D sont fausses.

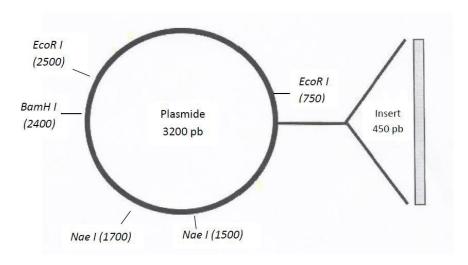
QCM 7 : Après signe d'appel échographique, on suspecte chez un foetus une achondroplasie. On amplifie alors un fragment de 300pb du gène FGFR3 à partir d'ADN extrait des globules blancs des 2 parents et du liquide amniotique. Le fragment amplifié comporte le nucléotide (position 1138) qui s'avère être muté en cas d'achondroplasie :

Lorsque Bmfl coupe l'amplicon en 2 fragments de 100 et 200pb, cela signifie qu'il y a la mutation 1138G>A Voici le gel correspondant à l'analyse des produits d'amplification obtenu à partir de l'ADN des parents et du foetus :

- A) Les parents ainsi que le foetus sont achondroplases homozygotes 1138 G>A
- B) Le foetus ne possède pas la mutation 1138 G>A
- C) On peut dire que le foetus n'est pas atteint d'achondroplasie
- D) Le fragment d'ADN 1 est plus grand que le fragment 2
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses



QCM 8 : Vous réalisez une carte de restriction pour différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous :

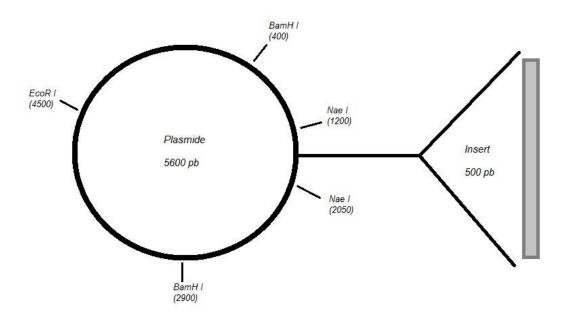


Après digestion enzymatique avec l'enzyme Nae I, quels sont les fragments que l'on pourra obtenir après une migration sur gel électrophorétique ? Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

A) Plasmide sans insert: 200 pb + 3000 pb B) Plasmide avec insert: 650 pb + 3000 pb C) Plasmide sans insert: 1500 pb + 1700 pb D) Plasmide avec insert: 1700 pb + 1950 pb E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

### Tutorat 1

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 :



Après digestion enzymatique avec l'enzyme BamH I, quels sont les fragments que l'on pourra obtenir après une migration sur gel électrophorique ? Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

A) Plasmide sans insert: 850 pb + 4550 pb B) Plasmide avec insert: 3100 pb + 3000 pb C) Plasmide sans insert: 2500 pb + 3100 pb D) Plasmide avec insert: 3600 pb + 2500 pb E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 2 : A propos de l'électrophorèse, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'électrophorèse permet de faire migrer les molécules d'ADN grâce à leur charge négative
- B) Au cours d'une électrophorèse, ce sont les molècules possèdant le plus de charges négatives qui migrent le plus loin
- C) Les molécules d'ADN migrent vers la cathode
- D) Après migration électrophorique, on utilisant un agent intercalent pour révéler les molécules d'ADN : le bromure d'éthidium
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

## QCM 3 : Concernant les enzymes utilisées pour les techniques de biologie moléculaire, indiquez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La technique de clonage moléculaire utilise l'activité d'une ligase.
- B) Les endonucléases de restriction sont généralement d'origine virale.
- C) L'ADN polymérase rajoute des nucléotides à l'extrémité 3' d'un brin d'ADN par complémentarité à une séquence matrice.
- D) Les enzymes de restrictions de type II sont des endonucleases capables de coupe une séquence d'ADN de manière spécifique et reproductible.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Soit une enzyme de restriction d'origine bactérienne pouvant couper de manière spécifique la séquence suivante :

Avant action de l'enzyme TTGCGCAA AACGCGTT Après action de l'enzyme TTGC | GCAA AACG | CGTT

#### Donnez la ou le(s) réponse(s) exacte(s) :

- A) Une enzyme de restriction est une exonucléase pouvant couper l'ADN double brin
- B) La séquence reconnu par cette enzyme est une séquence dite palindromique
- C) Après action de l'enzyme de restriction, on obtient des bout à bords francs
- D) Lors d'une vérification par électrophorèse, les fragments d'ADN migreront plus loin si l'enzyme de restriction a pu agir
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

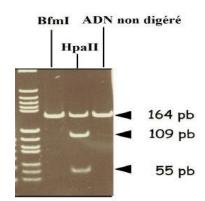
QCM 5 : Après signe d'appel échographique, on suspecte chez un foetus une achondroplasie. On amplifie alors un fragment de 300pb du gène FGFR3 à partir d'ADN du liquide amniotique. Le fragment amplifié comporte le nucléotide (position 1138) qui s'avère être muté en cas d'achondroplasie :

- Si la mutation est 1138G>A, Bmfl coupe l'amplicon en 2 fragments de 109 et 55 pb
- Si la mutation est 1138G>C, Hpall coupe l'amplicon en 2 fragments de 109 et 55 pb

Le gel ci-dessous est obtenu après digestion des produits d'amplification par les deux enzymes et migration électrophorique.

A gauche se trouve le marqueur de poids moléculaire

- A) Le foetus est achondroplase hétérozygote
- B) Le foetus est atteint d'achondroplasie par la mutation 1138G>C à l'état homozygote
- C) Le foetus est sain
- D) Sur l'image échographique, le foetus avait un front haut
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses



#### QCM 6 : A propos de la transcriptase inverse, indiquez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Elle synthétise l'ADN complémentaire à partir d'une amorce d'ADN.
- B) C'est une enzyme d'origine virale possédant une activité 5' -> 3' ARN polymérase.
- C) Elle permet la formation d'un ADN double brin.
- D) Elle peut être utilisée préalablement à la PCR, au clonage et au northern blot.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Vous réalisez le clonage du gène codant la beta globuline dans le plasmide pBlue ScriptII. Les ADN recombinants sont introduits dans les bactéries compétentes. Celles-ci sont mises en culture sur boîtes de Pétri dans un milieu contenant de l'ampicilline. Les bactéries résistantes sur ce milieu sont transférées sur un milieu contenant du X gal et de l'IPTG.

- A) L'IPTG est un inducteur du gène de la béta-galactosidase.
- B) Toutes les bactéries ayant intégré le plasmide présentent une coloration blanche.
- C) Les bactéries des colonies bleues sont toutes résistantes à l'ampicilline.
- D) Les bactéries des colonies bleues résistantes à l'ampicilline possèdent un plasmide sans insert.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

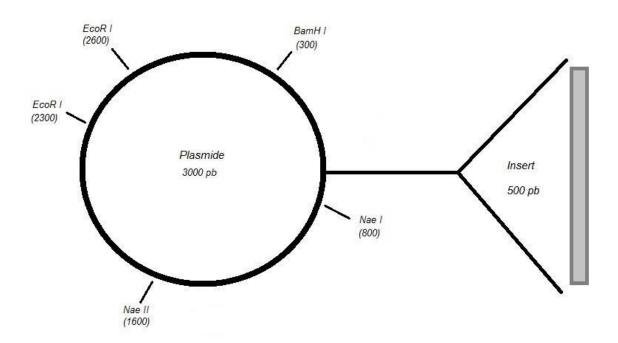
QCM 8 : Vous souhaitez étudier l'expression d'une protéine d'intérêt, indiquez la ou les réponse(s) exacte(s) concernant la ou les technique(s) utilisable(s) :

- A) PCR en temps réel
- B) Northern blot
- C) Clonage moléculaire suivi d'un séquençage
- D) Western blot
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

### **Tutorat 2**

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 :

Après digestion enzymatique avec les enzymes Nae I et BamH I, quels sont les fragments que l'on pourra obtenir après une migration sur gel électrophorique ? Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :



A) Plasmide sans insert: 1300 pb + 1700 pb B) Plasmide avec insert: 2750 pb + 750 pb C) Plasmide sans insert: 2500 pb + 500 pb D) Plasmide avec insert: 1800 pb + 1700 pb E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 2 : A propos des principales techniques de biologie moléculaire, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'information moléculaire génétique ne peut être analysée qu'à partir de l'ADN
- B) La quantité d'échantillon nécessaire pour l'analye est très faible (ordre du microgramme) car les techniques de biologie moléculaire sont très spécifiques
- C) Le principal risque de ces techniques est la destructuration des acides nucléiques
- D) Ces techniques sont applicables pour n'importe quelle cellule en dehors des globules rouges
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

# QCM 3 : L'extraction d'ADN est pratiquée en routine à partir de quelques millilitres de sang. Concernant les principales étapes de l'extraction d'ADN, indiquez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Lyse des globules rouges, extraction par éthanol absolu à froid, précipitation par phénol chloroforme.
- B) Dénaturation des érythrocytes, extraction sur colonne d'oligodT, précipitation par l'éthanol absolu à froid et des sels.
- C) Lyse des globules rouges, extraction par phénol chloroforme, précipitation par l'éthanol et des sels à froid.
- D) Lyse des globules rouges, extraction par phénol chloroforme acide, récupération de la phase aqueuse, précipitation par l'éthanol et des sels à froid.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 4 : Concernant la technique PCR, indiquez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Elle permet l'amplification spécifique d'un fragment d'ADN d'intérêt double brin.
- B) Lors de la phase de dénaturation, des liaisons covalentes sont rompues permettant la liaison de l'ADN simple brin avec les amorces.
- C) Elle comprend une étape d'hybridation des deux amorces à 95°C.
- D) Elle nécessite le séquençage préalable de la séquence entière étudiée.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

QCM 5 :. Vous recherchez dans une famille la présence de la mutation c.2130 G>T ou c.2130 G>A par PCR suivie d'une digestion enzymatique. La séquence d'un sujet contrôle sain encadrant la position 2130 est (la position 2130 est surlignée) :

#### 5'- AAGCTGAAGTCGAGAGG -3'

- A) Les patients présentant une mutation pourront être détectés après utilisation de l'enzyme AtrIII dont le site de restriction est : AGTCGA
- B) L'enzyme Hpall dont le site de restriction est CCGG ne permettra pas de détecter la présence de la mutation.
- C) L'enzyme de restriction EcoRI dont le site de restriction est 5'- GAATTC -3' permettra de détecter une mutation de type c.2130 G>T.
- D) Pour déterminer le génotype des différents membres de la famille, on utilise une exonucléase.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 6: A propos de l'utilisation d'une sonde Taqman, donnez la ou les réponse(s) exacte(s):

- A) La sonde Tagman est composée de deux parties distinctes : un quencher et un fluorophore
- B) Lorsque le quencher est suffisament proche du fluorophore, celui-ci peut fluorescer
- C) La sonde Taqman possède une activité exonucléasique 5' 3'
- D) La sonde taqman se fixe sur le brin d'ADN durant la phase d'élongation
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

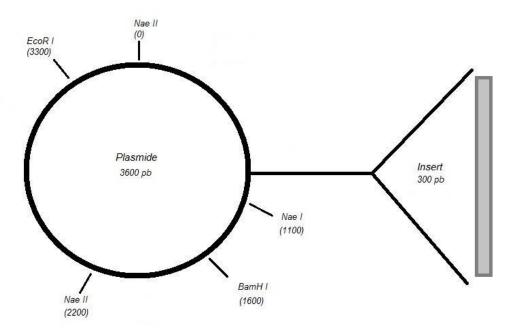
#### QCM 7 : Concernant le clonage moléculaire, indiquez la ou les réponse(s) excate(s) :

- A) Les vecteurs sont des ADNs simples brins capables de se répliquer de manière autonome dans la cellule.
- B) L'insert posséde des gènes de sélection qui vont permettre à la bactérie de se développer par rapport aux bactéries qui ne possèdent pas ce caractère.
- C) Il existe deux grands types de vecteurs : les vecteurs de clonage et les vecteurs d'expression.
- D) La ligase ne peut refermer le vecteur sans avoir insérer l'insert.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 8 : A propos du syndrome de Wolfram, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Il s'agit d'une mutation monogénique dominante
- B) Le gène WFS1 code pour une protéine jouant un rôle au niveau des régulations calciques
- C) Tous les exons du gène WFS1 sont codants
- D) La mutation à l'origine de ce syndrome a toujours lieu au niveau du même nucléotide
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

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 :



Après digestion enzymatique avec l'enzyme Nae I et EcoR I, quels sont les fragments que l'on pourra obtenir après une migration sur gel électrophorique ? Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

A) Plasmide sans insert : 2200 pb + 1400 pb B) Plasmide avec insert : 2500 pb + 1400 pb C) Plasmide sans insert : 2200 pb + 1700 pb

D) Plasmide avec insert : 2500 pb + 1700 pb

E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 2 : A propos de l'extraction d'ADN, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le phénol utilise la solubilité différentielle de l'ADN et des protéines pour les séparer.
- B) Lors de l'étape extraction phénol-chloroforme, l'ADN correspond à la phase aqueuse claire au fond du tube à essai
- C) Lors de l'étape extraction phénol-chloroforme, on obtient une phase phénolique colorée en haut du tube à essai
- D) Lors de l'étape extraction phénol-chloroforme, au centre du tube à essai on trouve les protéines dégradées
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 3 : Concernant le circuit PCR, donnez la ou les réponse(s) exate(s)) :

- A) Il y a une pièce dédiée à l'extraction d'ADN, une pièce pour le pré-mix, une pièce pour les machines PCR et enfin une pièce post-PCR
- B) Le circuit PCR est bidirectionnel
- C) L'objectif est d'éviter que les produits PCR ne viennent contaminer nos échantillons de départ
- D) Le circuit PCR est indispensable pour l'agrément du laboratoire
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 4 : Concernant l'électrophorèse, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'ADN est chargé positivement
- B) L'ADN migre du vers le +
- C) La séparation des molécules d'ADN se fait en fonction de leur taille et de la concentration du gel d'agarose ou d'acrylamide grâce au courant électrique.
- D) Les plus petites molécules migrent le moins loin.
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Après signe d'appel échographique, on suspecte chez un foetus une achondroplasie. On amplifie alors un fragment de 300pb du gène FGFR3 à partir d'ADN extrait des globules blancs des 2 parents et du liquide amniotique. Le fragment amplifié comporte le nucléotide (position 1138) qui s'avère être muté en cas d'achondroplasie :

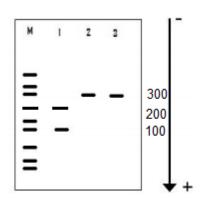
- Si la mutation est 1138G>A, Bmfl coupe l'amplicon en 2 fragments de 100 et 200pb
- Si la mutation est 1138G>C, Hpall coupe l'amplicon en 2 fragments de 100 et 200pb

Voici une migation éléctophorique après utilisation de l'enzyme de restriction Bmfl :

M : marqueur de poids moléculaire 1 : ADN du foetus 2 : ADN de la mère 3 : ADN du père

Le témoin négatif nous montre qu'il n'y a pas eu de contamination Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le foetus est achondroplase homozygote
- B) Le foetus a une mutation 1138 G>A à l'état hétérozygote
- C) Les parents ne sont pas atteints d'achondroplasie
- D) Le résultat est interprétable
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses



#### QCM 6 : A propos de la PCR en temps réel, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Contrairement à la PCR classique, la PCR en temps réel est qualitative
- B) On utilise des agents intercalents émettant une fluorescence lorsqu'ils se fixent sur une molécule d'ADN simple brin
- C) La mesure de la quantité d'ADN se fait grâce à la fluorescence mesurée au bout d'une quarantaine de cycle
- D) Le cycle seuil correspond au nombre de cycle nécessaire pour commencer à voir une fluorescence
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Vous recherchez dans une famille la présence de la mutation c.945 C>A par PCR, suivie d'une digestion enzymatique. La séquence d'un sujet contrôle sain encadrant la position 945 est ( la position 945 est surlignée) :

#### **AATGATGTCCCCAC**

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

Alul dont le site de restriction est : AGCT Bfml dont le site de restriction est : CTACAG BamHl dont le site de restriction est : GATGTC Hpall dont le site de restriction est : GTAC

Concernant les enzymes de restriction que pouvez-vous utiliser, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Aucune de ces 4 enzymes n'est utilisable
- B) Deux enzymes sont utilisables : Bfml et Hpall
- C) Deux enzymes sont utilisables : Alul et Bfml
- D) Deux enzymes sont utilisables : BamHI et HpaII
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses

#### QCM 8 : A propos du séquençage haut débit, donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Dans le séquençage à Haut débit, la molécule d'ADN étudiée est fragmenté
- B) Après l'amplification PCR, on ajoute un adaptateur et un code barre à chaque fragment d'ADN
- C) L'adaptateur placé à l'une des extrémités du fragment d'ADN permet de n'utiliser qu'un seul type de primer par la suite
- D) Pour savoir si un nucléotide a été intégré, on surveille le pH : celui-ci diminue lors de la formation d'une liaison phosphodiester
- E) Les réponses A, B, C et D sont fausses