

1/	BD	2/	B	3/	CD	4/	AD	5/	CD
6/	C	7/	ACD	8/	C				

QCM 1 : BD

- A) Faux : la maladie de Charcot Marie Tooth est une maladie qui touche plusieurs gènes, et pas un seul comme le Syndrome de Wolfram par exemple. Si maintenant on recherche bien des mutations dans un seul gène c'est bien une PCR suivie d'un séquençage que l'on doit réaliser
- B) Vrai : c'est tout l'exemple de la famille B du deuxième cours, allez voir la fiche si vous avez pas tout compris, sinon on est là pour vous expliquer ;)
- C) Faux : il n'y pas d'intérêt à faire une PCR en temps réel (*pour rappel, la PCR en temps réel est une méthode quantitative et c'est pas du tout ce qu'on cherche là*). Dans cette situation on va réaliser un clonage moléculaire (carte de restriction etc...)
- D) Vrai : c'est tout l'intérêt cette fois ☺
- E) Faux

QCM 2 : B

- A) Faux : le fœtus est hétérozygote malade (l'achondroplasie est une maladie autosomique dominante) car il a un amplicon intact non-coupé de 164 pb (allèle sain), et deux autres fragments de 109 et 55 pb qui indique qu'il y a eu coupure au niveau de l'allèle muté
- B) Vrai : c'est l'enzyme Bmf I qui a coupé, donc la mutation est G>A
- C) Vrai : cf. B)
- D) Faux : le père est porteur de la mutation c.1138G>A dans le gène FGFR3 à l'état **hétérozygote**, s'il avait été homozygote il y aurait eu uniquement deux fragments de 109 et 55 pb car les deux allèles auraient été coupés et aurait générés chacun un fragment de 55 pb et un fragment de 109 pb qui se seraient superposés sur le gel
- E) Faux

QCM 3 : CD

- A) Faux : tout est vrai sauf que le caryotype de l'individu est normal, il est anormal en cas d'anomalie du nombre de chromosomes (pathologie chromosomique), c'est-à-dire à une échelle différente. On est en effet ici à l'échelle nucléotidique et il n'y aura aucune anomalie de visible à l'échelle chromosomique et donc à l'échelle du caryotype
- B) Faux : une maladie autosomique = génétique est une anomalie de structure (mucoviscidose, achondroplasie ...) où le caryotype est normal // maladie chromosomique qui est une anomalie de nombre (trisomies...) où le caryotype est anormal ++++
- C) Vrai : tout simplement
- D) Vrai : les maladies autosomiques et gonosomiques sont les deux sous-catégories de maladies génétiques en fonction du type de chromosome qui possède une séquence muté, mais comme l'anomalie est à l'échelle nucléotidique (mutation) elle n'aura aucune répercussion sur le caryotype !
- E) Faux

QCM 4 : AD

- A) Vrai : l'amplification du fragment a été bloquée par l'insertion d'un **didéoxycytosine TriPhosphate** à son extrémité 3', le brin formé (c'est-à-dire lu sur l'électrophorèse) le plus petit est donc **5' C 3'** !
- B) Faux : la séquence du brin séquencé est **complémentaire** de la séquence du brin lu du bas vers le haut sur le gel (cf. D), la séquence du brin séquencé est donc **3'GTCCACGTA---5'** (et oui les brins sont ANTIPARALLELES, on n'oublie pas la Biomol les enfants <3) il fallait donc inverser les extrémités 3' et 5' par rapport au brin lu !
- C) Faux : cf. B)
- D) Vrai : le brin lu/formé est le brin dont les fragments sont analysés directement sur le gel de l'électrophorèse. La séquence de ce brin est lue de bas en haut, autrement dit des fragments les plus légers qui correspondent aux premiers nucléotides, vers les fragments les plus lourds qui correspondent aux derniers nucléotides de la séquence ! La séquence du brin lu est donc bien **5'CAGGTGCAT---3'**
- E) Faux

QCM 5 : CD

- A) Faux : **PRO**caryote je pense pas, **eucaryote** surement oui
- B) Faux : la position du Tag en N-terminal ou C-terminal est justement très importante et fait partie de la stratégie envisagée dans les études d'expression, selon que la mutation dont on veut mettre en évidence l'effet est en N-terminal ou en C-terminal
- C) Vrai : oui oui, parfaitement <3

D) Vrai : eh oui encore une fois, tout est magnifiquement bien détaillé à la page 22 de votre ronéo 2 !

E) Faux

QCM 6 : C

A) Faux : on ne peut pas amplifier directement l'ARN par PCR, il faut d'abord passer par l'**ADN complémentaire** via une **transcription inverse** ! De plus la PCR quantitative n'a pas d'indication ici pour rechercher une substitution nucléotidique à l'origine d'un variant d'épissage, on doit utiliser une méthode qualitative et non quantitative !

B) Faux : pas de PCR à partir d'ARNm purifiés, mais à partir d'**ADNc** !

C) Vrai

D) Faux : certes on pourrait utiliser le séquençage au débit pour séquencer tout le gène et ainsi trouver la mutation, dans l'absolu cette technique fonctionnerait, mais n'oubliez pas qu'en génétique médicale on aura toujours recours à **la technique la plus simple et la plus efficace** face à un cas clinique donné ! Ici on cherche à détecter un variant d'épissage dans **un gène donné**, et non pas une maladie polygénique ! Il y a donc mieux à faire que du NGS qui est la méthode « bourrin » :p

Votre mutation ne concernant qu'**un seul gène**, vous préférerez donc faire une PCR à partir de l'ADNc synthétisé suivie d'un séquençage Sanger !

Le **séquençage haut débit** est vraiment réservé aux pathologies impliquant **plusieurs gènes** quand on n'a aucune autre alternative, utiliser le NGS pour détecter un variant d'épissage dans un seul gène reviendrait à utiliser une scie-sauteuse pour ouvrir un bocal de cornichons...

E) Faux

QCM 7 : ACD

A) Vrai

B) Faux : n'importe quoi, les séquences d'intérêts **sont** reconnues par les sondes de capture, les régions sans intérêt seront éliminées après plusieurs lavages et éluions

C) Vrai

D) Vrai : c'est tout le principe de la PCR en émulsion ++++++

E) Faux

QCM 8 : C

→ **Piste 1**, l'enzyme de restriction **Pvu II** coupe en position **2280**.

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

→ **Piste 2** (*même principe que pour la piste 1*): **EcoR I** coupe en position **5110**.

Ici, le fragment obtenu sur la piste 2 fait encore **7850 pb** ; l'insert fait alors **650 pb**.

→ **Piste 3**, l'enzyme de restriction **Sca I** coupe en position **850** et **Sma I** coupe en position **4350**.

L'insert, s'il est intégré, se retrouvera au niveau d'un fragment de plasmide de $4350 - 850 = 3500 \text{ pb}$.

Sur l'électrophorèse, on obtient un grand fragment de **4150 pb** et un petit fragment de **3500 pb**.

L'insert, intégré au niveau du petit fragment, fait alors $4150 - 3500 = 650 \text{ pb}$.

→ **Piste 4** (*même principe que pour la piste 3*): **Pvu II** coupe en position **2280** et **EcoR I** coupe en position **5110**.

L'insert, s'il est intégré, se retrouvera au niveau du grand fragment de plasmide de $7200 - (5110 - 2280) = 4370$

Sur l'électrophorèse, on obtient un grand fragment de **5020 pb** et un petit fragment de **2830 pb**.

L'insert, intégré au niveau du grand fragment, fait alors $5020 - 4370 = 650 \text{ pb}$.

A) Faux

B) Faux

C) Vrai

D) Faux : cf. A) et B) c'est tout à fait possible car on utilise à chaque fois une seule enzyme qui se contente d'ouvrir l'ADN recombinant sans le couper en plusieurs fragments, on dit que l'ADN recombinant est linéarisé

E) Faux