

1/	BC	2/	ABD	3/	A	4/	C	5/	ACD
6/	BD	7/	ACD	8/	ABC				

QCM 1 : BC

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

QCM 2 : ABD

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

QCM 3 : A

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

QCM 4 : C

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

QCM 5 : ACD

A) Vrai :

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

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

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

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

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

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

C) Vrai : cf. B)

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

E) Faux

QCM 6 : BD

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

B) Vrai

C) Faux : elle possède une activité endonucléasique

D) Vrai

E) Faux

QCM 7 : ACD

A) Vrai

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

C) Vrai

D) Vrai

E) Faux

QCM 8 : ABC

A) Vrai :

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

$$1100 - 500 = 600$$

$$1600 - 600 = 1000$$

$$1000 + 200 = 1200$$

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

$$1400 - 800 = 600$$

$$1600 - 600 = 1000$$

$$800 + 200 = 1200$$

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

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

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

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

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

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

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

$$300 - 100 = 200$$

$$1600 - 200 = 1400$$

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

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

D) Faux : cf. B)

E) Faux