

QCM 1 : Indiquer le ou les éléments présents dans un automate pour réaliser une PCR :

- A) L'ADN du patient
- B) Les amorces
- C) Une polymérase quelconque
- D) Des désoxyribonucléotides
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

QCM 2 : Indiquer la ou les bonne(s) réponse(s) : (item B, C et D entièrement modifiés par la prof)

- A) La PCR est un cycle de trois étapes répétées n fois qui permet l'amplification exponentielle du matériel génétique
- B) L'analyse des produits d'amplification obtenus par PCR est réalisée après migration électrophorétique sur gel d'agarose ou d'acrylamide
- C) Après migration sur gel, les fragments d'ADN sont visualisés grâce à l'incorporation du bromure d'éthidium
- D) Après migration électrophorétique, le gel est placé sous une lampe à UV
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

QCM 3 : Indiquer la ou les bonne(s) réponse(s), à propos du séquençage : (tous les items ont été reformulés par la prof)

- A) La méthode Sanger est la méthode de référence. T'elle qu'elle a été mise au point à l'origine et utilise 4 tubes contenant le mélange réactionnel, chaque tube contenant un ddNTP différent
- B) Elle permet de déterminer la succession de nucléotides d'une séquence d'intérêt
- C) La polymérase utilise des ddNTPs (didésoxyribonucléotides), et les étapes sont les mêmes que celles de la PCR
- D) Elle nécessite l'utilisation de deux amorces alors que la PCR en utilise une seule
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

QCM 4 : A propos de l'achondroplasie, indiquer la ou les bonne(s) réponse(s) :

- A) Les patients atteints d'achondroplasie sont de petite taille, ont les membres courts et une intelligence normale
- B) La plupart des patients ont leurs parents atteints d'achondroplasie également
- C) On peut utiliser une seule technique de biologie moléculaire pour poser le diagnostic d'achondroplasie
- D) Le gène responsable est FGFR3, qui code pour un récepteur à l'adrénaline
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

QCM 5 : Concernant le NGS, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Des enzymes de restriction sont utilisées pour la fragmentation du matériel génétique prélevé
- B) Les étapes d'extraction, de fragmentation de l'ADN, d'ajout des adaptateurs et barres codes sont les 3 étapes de préparation des échantillons.
- C) Après ajout des barres codes et adaptateurs, l'ADN est simple brin
- D) On utilise de l'ARN simple brin biotinylé afin de cibler nos régions d'intérêt, une fois capturés par des billes magnétiques recouvertes de streptavidine, nos séquences d'ADN d'intérêt seront détachées de l'ARN par chaleur (95°C)
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

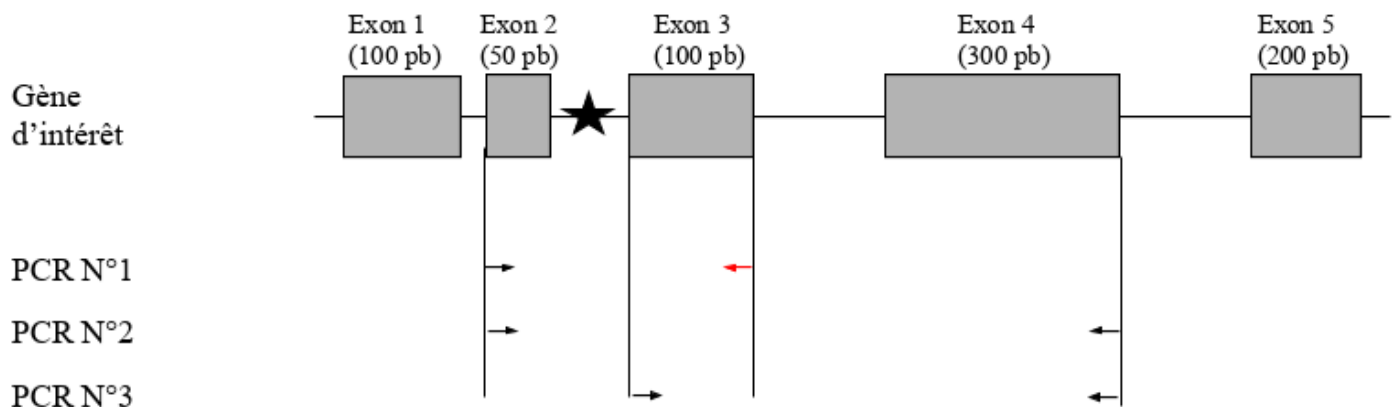
QCM 6 : A propos de l'amplification clonale par PCR en émulsion, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Au bout de n cycles, avec n le nombre de cycles désirés par le manipulateur, on retrouve dans les microréacteurs, des sphères recouvertes de fragment PCR ayant une extrémité 5' biotinylée.
- B) L'ordre des réactions est : dénaturation par la chaleur, hybridation de l'amorce P1, élongation, dénaturation, hybridation de l'amorce A, élongation, dénaturation, hybridation du brin synthétisé sur le primer de la sphère, élongation
- C) On utilise une T4 DNA ligase pour hybrider le brin nouvellement synthétisé aux primers de la sphère
- D) L'avantage de la NGS est qu'une sphère puissent accueillir plusieurs fragments de patients différents, grâce aux barres codes on pourra ensuite associer chaque séquence au patient correspondant
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

QCM 7 : A propos de la technique de séquençage haut débit (NGS), indiquer la ou les réponse(s) exacte(s):

- A) Dans les microréacteurs, les adaptateurs P1 et A ont tous les deux une particularité par rapport aux adaptateurs ajoutés aux séquences d'ADN de nos patients (biotinylation, ajout d'une séquence identique à la séquence des primers fixés sur la sphère)
- B) Dans tous les puits de la puce, sont injectés les 4 types dNTPs et des ddNTPs les uns après les autres : l'ajout d'un ddNTPs stoppera la synthèse du brin et par analyse informatique on pourra déterminer la séquence du brin.
- C) La recherche de mutations se fera en comparant les séquences obtenues à une séquence de référence
- D) Cette technologie est utilisée notamment dans le dépistage prénatal non invasif : permettant la recherche de trisomie chez le fœtus par prise de sang, l'ADN fœtal circulant dans le sang maternel : le but ici est de déterminer la séquence nucléotidique du fœtus.
- E) Les propositions A, B, C, et D sont fausses

QCM 8 : Vous suspectez dans une famille la présence d'une mutation, dans l'intron 2 du gène *AZE*, pouvant entraîner un site cryptique d'épissage. La mère est porteuse de cette mutation à l'état homozygote, le père n'est pas porteur du variant. Pour déterminer l'effet de cette mutation sur l'épissage de l'ARNm du gène *AZE*, vous réalisez différentes RT-PCR. Pour cela, vous extrayez les ARNm à partir d'un prélèvement d'un patient contrôle et de celui de la mère. Différentes PCR sont réalisées à partir des ADNc correspondants synthétisés. Le schéma du gène, la localisation de la mutation et les primers utilisés sont schématisés sur le dessin ci-dessous

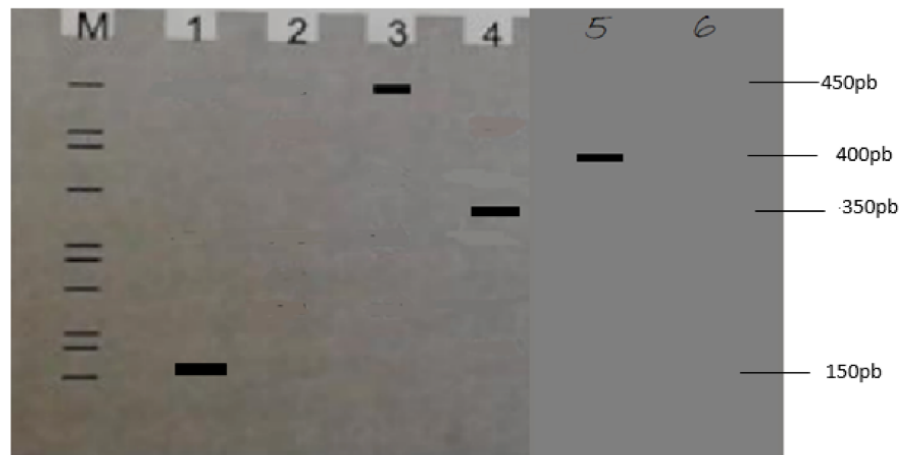


Primer PCR sens →

Primer PCR reverse ←

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 de l'ADNc maternel
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 de l'ADNc maternel
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 de l'ADNc maternel



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) Si l'enfant a hérité la mutation de sa mère, le résultat de la RT-PCR (utilisation des primers PCR2) vous révélera la présence d'une bande à 350pb et une à 450pb (item complètement réécrit par la prof)
- C) Pour confirmer l'effet de la mutation, le produit PCR déposé dans la piste 4 doit être séquencé par la méthode Sanger
- D) Si la mutation n'est pas connue, on pourra réaliser un clonage d'expression si l'on souhaite observer l'effet de cette mutation sur la protéine produite.
- E) Les réponses A, B, C, et D sont fausses

QCM 9 : Vous suspectez dans une famille la présence de la mutation c. 420 A>G responsable d'une maladie autosomique récessive. Pour rechercher cette mutation vous réalisez une PCR suivie d'une digestion enzymatique. La séquence d'un sujet contrôle sain encadrant la position 420 est (position 420 soulignée) :

TCAGTGGACCCTAG

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 bases chez un sujet contrôle sain. La digestion par SmaI entraîne deux fragments à 350pb et 150pb.

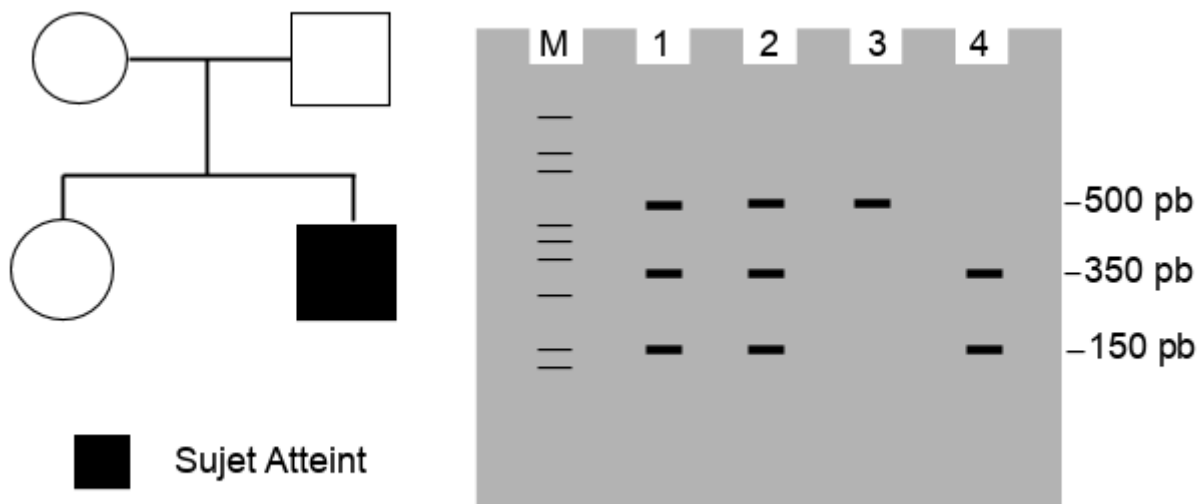
Le gel ci-dessous est obtenu après digestion par SmaI des produits d'amplification réalisés à partir des prélèvements sanguins des différents membres de la famille. Les produits de digestion sont séparés sur gel d'agarose après migration électrophorétique.

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) Tous les membres de la famille sont porteurs d'au moins un allèle portant la mutation décrite
- B) La fille n'est pas porteuse de la mutation c.420 A>G



- C) La probabilité pour que les parents aient un deuxième fils malade est de 25%
- D) Le père et la mère sont hétérozygotes pour la mutation c.420 A>G
- E) Les réponses A, B, C, et D sont fausses