

ANNATUT'

Etude du génome

UE11

[Année 2020-2021]



⇒ QCM issus des Tutorats, classés par chapitre

⇒ Correction détaillée



SOMMAIRE

1. Extraction des acides nucléiques	
Correction : Extraction des acides nucléiques	4
2. PCR	
Correction : PCR	6
3. Migration Electrophorétique	7
Correction : Migration Electrophorétique	9
4. Digestion Enzymatique	10
Correction : Digestion Enzymatique	11
5. Clonage Moléculaire	12
Correction : Clonage Moléculaire	13
6. Séquençage	14
Correction : Séquençage	15
7. Achondroplasie	16
Correction : Achondroplasie	17
8. Cartes de restriction	18
Correction : Cartes de restriction	20
9. Protéines de fusion	21
Correction : Protéines de fusion	22
10. Séquençage Haut Débit	23
Correction : Séquençage Haut Débit	25
11. QCM Mixtes	26
Correction : QCM Mixtes	28

1. Extraction des Acides Nucléiques

2019 – 2020 (Pr. Paquis)

QCM 1 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) à propos de l'extraction de l'ADN :

- A) La lyse des globules rouge se fait à l'aide d'une solution hypertonique
- B) Le sang est mélangé à un anticoagulant
- C) Pour extraire l'ADN, on utilise le phénol-chloroforme, afin d'éliminer les protéines, en utilisant la solubilité différentielle de 2 phases non miscibles
- D) Pour finir, on précipite l'ADN avec de l'éthanol, ce qui formera alors une "méduse" d'ADN
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'ADN est plus représentatif de ce qui est exprimé dans la cellule que l'ARN
- B) L'ARN est moins stable que l'ADN, donc l'ADN est plus utilisé en routine que l'ARN
- C) L'étude de l'ARN permet l'analyse de l'expression des gènes
- D) Pour extraire les ARN poly A+, on utilise une colonne d'oligo-T
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) On peut extraire de l'ADN à partir de n'importe quelle cellule de l'organisme
- B) On peut extraire de l'ADN à partir d'un follicule pileux
- C) L'ARN est plus représentatif de ce qui est exprimé dans la cellule, mais à cause de son instabilité, on utilisera plutôt l'ADN en routine
- D) L'ADN et l'ARN sont tous les deux sensibles aux nucléases
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Donner la ou les réponse(s) exacte(s) à propos de l'extraction de l'ADN :

- A) On peut réaliser des études moléculaires avec du sang sur héparine
- B) Après extraction au phénol chloroforme, on obtient différentes phases non miscibles, séparées par une galette de protéines
- C) La phase supérieure est la phase aqueuse et contient l'ADN en solution
- D) Lors de la précipitation à l'éthanol, le T10E1 sert à protéger l'ADN des éventuelles DNAses qui auraient persisté
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : A propos de l'analyse du matériel génétique :

- A) On peut analyser le génome de n'importe quelle cellule de l'organisme, y compris les globules rouges
- B) L'analyse se fait à partir d'acides nucléiques
- C) L'extraction d'ADN à partir de cellules amniotiques permet de réaliser un diagnostic prénatal
- D) Lors de l'extraction de l'ADN, on utilise une solution hypertonique afin de lyser les globules rouges
- E) Tout est faux

QCM 6 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'analyse du génome peut se faire à partir de n'importe quelle cellule nucléée
- B) On peut donc utiliser un globule rouge pour étudier le génome
- C) Mais nooon ! Mais par contre on pourra utiliser un globule blanc
- D) Les techniques de biologie moléculaire sont peu sensible, on a donc besoin de nombreuses cellules afin d'étudier le génome
- E) Tout est faux

QCM 7 : Donnez les étapes de l'extraction de l'ADN dans l'ordre chronologique :

- A) Prélèvement avec un hypercoagulant – Lyse des GR avec une solution hypotonique - Récupération des leucocytes dans un mélange de détergent et de protéinase K – Extraction au phénol chloroforme - Précipitation à l'éthanol
- B) Prélèvement avec un anticoagulant – Lyse des GR avec une solution hypotonique - Récupération des GR dans un mélange de détergent et de protéinase K – Extraction à l'éthanol - Précipitation au phénol chloroforme
- C) Prélèvement avec un anticoagulant – Lyse des GR avec une solution hypotonique - Récupération des leucocytes dans un mélange de détergent et de protéinase K – Extraction au phénol chloroforme - Précipitation à l'éthanol
- D) Prélèvement avec un anticoagulant – Lyse des GR avec une solution hypotonique - Récupération des leucocytes dans un mélange de détergent et de protéinase K – Précipitation à l'éthanol - Extraction au phénol chloroforme
- E) Tout est faux

QCM 8 : A propos des techniques de biologie moléculaire :

- A) Ce sont des techniques très sensibles, permettant une analyse moléculaire ciblée à partir d'une seule cellule
- B) On peut extraire de l'ADN et de l'ARN à partir de n'importe quelle cellule de l'organisme
- C) Il y a une différence de stabilité entre l'ARN et l'ADN : l'ARN est beaucoup plus stable que l'ADN
- D) Mais ces acides nucléiques sont tous les deux sensibles à une digestion par des nucléases
- E) Tout est faux

QCM 9 : A propos de l'extraction de l'ADN :

- A) On ne peut pas réaliser d'études moléculaires avec du sang sur héparine car elle active des étapes
- B) On lyse des globules blancs avec une solution hypotonique
- C) On réalise une extraction au phénol-chloroforme, pour éliminer les protéines en utilisant la solubilité différentielle des molécules de deux phases non miscibles
- D) La phase supérieure est aqueuse et contient l'ADN en solution, et la phase inférieure est phénolique
- E) Tout est faux

QCM 10 : A propos de la transcriptase inverse :

- A) C'est une enzyme d'origine bactérienne
- B) Elle copie un fragment d'ADN à partir d'ARN, en formant un brin hybride ADN/ARN
- C) La RNase H permet de dégrader les brins d'ARN lorsqu'ils sont hybridés sur un brin d'ADN
- D) L'ADNc est une copie ADN d'une séquence ARN
- E) Tout est faux

Correction : Extraction des acides nucléiques**2019 – 2020 (Pr. Paquis)****QCM 1 : BCD**

- A) Faux : c'est une solution HYPOtonique, pour faire exploser les GR (coucou la physio)
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : BCD

- A) Faux : c'est l'ARN qui est plus représentatif de ce qui est exprimé dans une cellule ++
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : BCD

- A) Faux : uniquement les cellules nucléées
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 4 : BCD

- A) Faux : on ne peut pas car l'héparine inhibe certaines enzymes ++
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 5 : BC

- A) Faux : on ne peut pas utiliser les globules rouges car ils ne sont pas nucléés
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : c'est une solution HYPOtonique
- E) Faux

QCM 6 : AC

- A) Vrai
- B) Faux : le GR n'a pas de noyau +++++
- C) Vrai : on peut utiliser un GB !
- D) Faux : les techniques sont très sensibles, on peut donc étudier le génome à partir d'une seule cellule
- E) Faux

QCM 7 : C

- A) Faux : un ANTIcoagulant (facile)
- B) Faux : c'est extraction au phénol chloroforme et précipitation à l'éthanol, et on récupère les leucocytes pas les GR !
- C) Vrai
- D) Faux : L'extraction c'est AVANT la précipitation
- E) Faux

QCM 8 : AD

- A) Vrai
- B) Faux : uniquement les cellules nucléées
- C) Faux : l'ADN est plus stable
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 9 : CD

- A) Faux : elle INHIBE certaines étapes
- B) Faux : globules rouges
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 10 : BCD

- A) Faux : virale
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

2. PCR

2019 – 2020 (Pr. Paquis)

QCM 1 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La PCR est une technique très sensible, et présente donc un grand risque de contamination
- B) C'est pour cela qu'un laboratoire doit impérativement posséder un circuit bi-directionnel afin d'obtenir son agrément
- C) La PCR contient 3 étapes : Dénaturation - Hybridation - Elongation
- D) La PCR est une amplification exponentielle générant 2^n molécules d'ADN au bout de n cycles
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) à propos de la PCR :

- A) C'est une technique permettant l'obtention d'ADN de l'ensemble du génome en grande quantité
- B) Il suffit de connaître la séquence des 18-20 nucléotides avant et après la séquence que nous voulons amplifier pour que la PCR se fasse
- C) Un circuit monodirectionnel n'est pas indispensable pour réaliser cette technique de biologie moléculaire
- D) La PCR permet une amplification linéaire de l'ADN
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Donner la ou les bonne(s) réponse(s) à propos de la PCR :

- A) C'est une réaction cyclique qui permet une amplification exponentielle de l'ADN
- B) On utilise une solution hypotonique lors des 3 étapes de la PCR
- C) Pour cette technique, il faut absolument que la température reste constante du début à la fin des étapes
- D) A la toute fin d'une PCR, on pourra affirmer un diagnostic d'achondroplasie
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : A propos de la PCR :

- A) Grâce à cette technique, on amplifie une région spécifique de l'ADN
- B) Elle utilise une Taq polymérase, qui est thermosensible
- C) C'est une technique très sensible, qui présente donc un risque de contamination, et nécessite donc un circuit monodirectionnel
- D) Les 3 étapes de la PCR sont : Dénaturation, Hybridation, Elargissement
- E) Tout est faux

QCM 5 : 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, D, E sont fausses

QCM 6 : 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, D, E sont fausses

QCM 7 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) La PCR permet d'amplifier une région non spécifique d'ADN
- B) Elle permet donc d'obtenir une grande quantité d'ADN
- C) Pour réaliser une PCR, on doit connaître toute la séquence de la région que nous voulons amplifier
- D) La PCR utilise une enzyme thermosensible : la Taq Polymérase
- E) Tout est faux

QCM 8 : À propos de la technique de la PCR en temps réel donner la ou les vraies :

- A) Cette technique peut par exemple être utilisé chez un patient atteint de VIH pour déterminer la quantité de virus présents dans son organisme
- B) La mesure de la fluorescence se fait tout au long de la PCR
- C) Au cours de la PCR en temps réel la température ne varie pas
- D) À la fin de la PCR en temps réel on réalisera une migration électrophorétique sur gel d'agarose
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : PCR**2019 – 2020 (Pr. Paquis)****QCM 1 : ACD**

- A) Vrai
- B) Faux : un circuit MONO-directionnel ++
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : BD

- A) Faux : uniquement une séquence spécifique d'ADN
- B) Vrai
- C) Faux : il est indispensable
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : A

- A) Vrai
- B) Faux : la solution hypotonique c'est pendant l'extraction de l'ADN, pas du tout lors d'une PCR
- C) Faux : on utilise un thermocycleur pour faire varier la température +++
- D) Faux : le diagnostic d'achondroplasie nécessite une digestion enzymatique et un séquençage ++
- E) Faux

QCM 4 : AC

- A) Vrai
- B) Faux : la Taq Polymérase est thermostable
- C) Vrai
- D) Faux : c'est élongation
- E) Faux

QCM 5 : ABD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Faux : il faut la Taq polymérase
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 6 : ABCD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 7 : B

- A) Faux : elle permet d'amplifier une région SPECIFIQUE d'ADN +++
- B) Vrai
- C) Faux : on a juste besoin de connaître les bornes d'amont et d'aval ++
- D) Faux : la Taq Polymérase est thermoSTABLE ++
- E) Faux

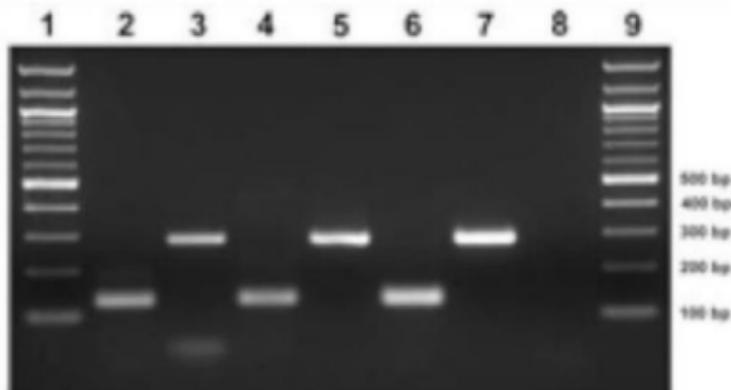
QCM 8 : A

- A) Vrai : (oui il existe d'autres virus que le Covid mais c'est aussi la technique qu'ils utilisent dans les tests actuellement !)
- B) Faux : La mesure de la fluorescence se fait tout au long de la PCR à la fin de chaque cycle de PCR (juste après l'étape d'élongation)
- C) Faux : c'est le même principe qu'une PCR normale avec les mêmes cycles donc même température
- D) Faux : la migration électrophorétique avec agent intercalant radioactif c'est pour la PCR normale afin de vérifier que nos fragments séquencer fassent bien le bon nombre de paires de bases car on va les séquencer après -> pas le but de la PCR en temps réel qui est quantitative
- E) Faux

3. Migration Electrophorétique

2019 – 2020 (Pr. Paquis)

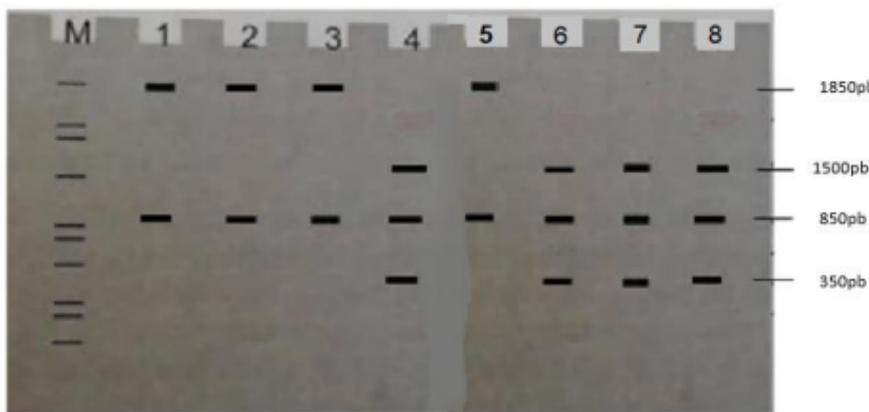
QCM 1 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s), à propos de l'électrophorèse :



- A) Elle permet de vérifier les produits d'amplification de la PCR, et utilise un champ électrique pour faire migrer les protéines selon leur électronégativité
 B) La vitesse de migration d'une molécule d'acide nucléique sera fonction : de sa masse moléculaire (nbre de pb) et de la concentration en agarose ou en acrylamide du gel.
 C) Sur l'image ci-dessous, la colonne numéro 8 est le témoin négatif, permettant de vérifier l'absence de contamination
 D) Les colonnes 1 et 9 permettent de connaître la taille des molécules qu'on a fait migrer
 E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Lucas, interne fraîchement nommé en Biomol, prend son premier patient en consultation. Il se retrouve face au patient vu au QCM précédent (qu'on appelle M.007) et à sa fille de 4ans. Il est très inquiet et souhaiterait savoir si, avec des signes cliniques très très marqués, sa fille est porteuse de la mutation. M : marqueur de poids moléculaire,

- Piste 1 : allèle 1 de la Mère de 007,
 Piste 2 : allèle 1 Père de Mr.007,
 Piste 3 : allèle 1 Mr.007,
 Piste 4 : allèle 1 fille de 007
 Piste 5 : allèle 2 de la Mère de 007,
 Piste 6 : allèle 2 Père de Mr.007,
 Piste 7 : allèle 2 Mr.007,
 Piste 8 : allèle 2 fille de 007



Les positions des sites de coupure sur le plasmide pour les enzymes de restriction (EcoRI, BamHI, SvaII, SvaI) sont figurées. Hormis le site O-RNELLA, la mutation ne crée aucun autre site de restriction sur l'insert. Après digestion par différentes enzymes de restriction, les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.

Vous allez aider Lucas (qui est plus calé en Système Rénine Angiotensine qu'en Séquençage) à étudier la mutation abordée dans le QCM précédent pour différents membres de la famille de notre patient. Le gel ci-dessus est obtenu après digestion (par les mêmes enzymes de restriction que précédemment : BamHI, SvaII et OR-NELLA) des produits d'amplification après clonage (cf. QCM9) réalisés à partir des prélèvements sanguins des différents membres de la famille.

QCM 2 : Donnez la / (les) vraie(s).

- A) Tous les membres de cette famille sont porteurs d'au moins un allèle muté
- B) Mr. 007 et son père sont tous les deux porteurs de cette mutation à l'état homozygote
- C) La fille est porteuse de cette mutation dominante à l'état homozygote ce qui peut expliquer la présence de signes cliniques très marqués
- D) On peut donc supposer que la femme de Mr.007 possède elle aussi au moins un allèle muté pour ce gène, qu'elle a transmis à sa fille.
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses mais Lucas votre tuteur d'UE3b est bien avec ses cheveux

Correction : Migration Électrophorétique**2019 – 2020 (Pr. Paquis)**

QCM 1 : ABCD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 2 : CD (E)

- A) Faux : la mère de Mr.007 homozygote non muté pour la mutation étudiée
- B) Faux : hormis l'interprétation du gel on vous a dit en QCM 9 que Mr.007 était hétérozygote pour la mutation
- C) Vrai
- D) Vrai : étant donné qu'elle est homozygote elle a reçu un allèle muté de son père et un de sa mère. On sait que son père est hétérozygote muté on peut donc supposer que sa mère porte « au moins » un allèle muté (elle peut aussi être homozygote muté on n'a pas son analyse pour conclure).
- E) Vrai : mais au moment même où j'ai écrit ce QCM il les avaient de nouveau perdus

4. Digestion Enzymatique

2019 – 2020 (Pr. Paquis)

QCM 1 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s), à propos de la digestion enzymatique :

- A) Elle utilise des enzymes de restriction, qui sont des exonucléases
- B) Les enzymes de type 2 réalisent des coupures reproductibles et spécifiques d'une séquence nucléotidique
- C) Ces enzymes détruisent les liaisons hydrogène
- D) Les enzymes de restriction de type 2 reconnaissent une séquence dite palindromique
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

Correction : Digestion Enzymatique**2019 – 2020 (Pr. Paquis)**

QCM 1 : BD

- A) Faux, ce sont des ENDOnucléases
- B) Vrai
- C) Faux, elles détruisent les liaisons phosphodiesters
- D) Vrai
- E) Faux

5. Clonage Moléculaire

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Concernant les caractéristiques d'un vecteur de clonage, la (les) vrai(es) :

- A) Il possède un poly linker (site multiple de clonage) dont le but sera de donner un atout sélectif aux bactéries l'ayant intégré
- B) Son origine de répllication propre lui permet d'avoir une répllication indépendante de la bactérie qui l'accueillera
- C) Il possède un poly linker (site multiple de clonage) : séquence connue où il y a de nombreux sites pour des enzymes de restriction
- D) Plus le vecteur est grand (en nombre de paires de bases), plus il peut accueillir d'inserts
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Après transformation, les clones bactériens sont sélectionnés afin de ne repiquer que les plasmides ayant intégrés un ADN recombinant, quelle(s) est (sont) la (ou les) propositions vrai(es) :

- A) Les bactéries ayant intégrées un vecteur, possèdent, grâce à lui, un gène de résistance, elles sont donc sensibles aux antibiotiques
- B) Si l'insert a été intégré au plasmide il éteint le gène de la Bêta-Galactosidase : on observe une couleur bleue
- C) Si l'insert a été intégré au plasmide il éteint le gène de la Bêta-Galactosidase : on observe une couleur blanche
- D) On ne repique que les colonies blanches
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Indiquer la ou les manifestation(s) clinique(s) de la maladie de Wolfram :

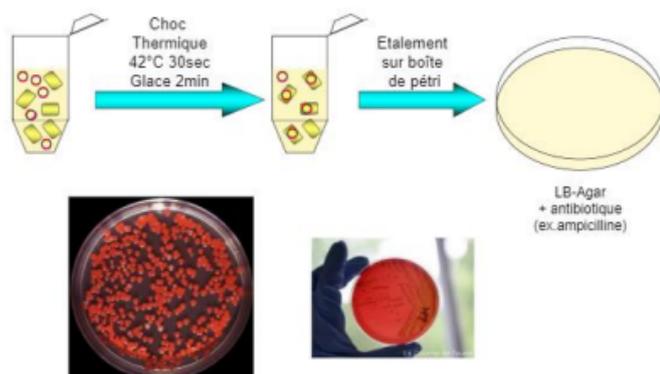
- A) Diabète
- B) Front haut
- C) Hyperlordose lombaire
- D) Atrophie optique
- E) Déficience mentale

QCM 4 : A propos du but et des étapes du clonage moléculaire, la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Le but du clonage moléculaire est de séparer les deux produits PCR et de les amplifier séparément
- B) Les enzymes de restriction sont des endonucléases spécifiques qui ont la capacité de couper l'ADN double brin.
- C) Lors de la ligation d'un insert et d'un vecteur à extrémités cohésives, les extrémités cohésives sont liés à l'aide d'une T4 DNA ligase tandis que les liaisons phosphodiester s'hybrident par complémentarités des bases
- D) Le choc thermique appliqué aux bactéries les rendent compétentes : c'est par ce choc thermique qu'elles peuvent, par exemple, acquérir une résistance aux antibiotiques.
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : A propos des étapes du clonage moléculaire, la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) L'étape schématisée ci-dessous correspond à la transfection bactérienne
- B) Dans la photographie du gel ci-dessous, chaque colonie (chaque point rouge) provient d'une seule bactérie qui s'est multipliée. Toute la colonie est constituée d'un clone pur de la bactérie.
- C) Après sélection des bactéries d'intérêts, amplification clonale et extraction de l'ADN recombinant, on peut réaliser une carte de restriction : elle permet de vérifier facilement et rapidement si l'ADN récupéré correspond à l'ADN qui nous intéressait
- D) Après digestion de l'ADN recombinant par des enzymes de restriction, on séquencera (par méthode Sanger) ses fragments afin de déterminer si le plasmide a bien intégré ou non le bon insert.
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses



QCM 6 : A propos du clonage moléculaire

- A) Son but est d'isoler et d'amplifier une région d'ADN ciblée
- B) Il repose sur l'utilisation d'un vecteur et d'un insert
- C) La séquence du vecteur est connue : il possède notamment un polylinker, une origine de réplication et un gène de sélection
- D) Après transformation bactérienne, on effectue sélections : par antibiotique et sélection blanc bleu
- E) Tout est faux

QCM 7 : A propos du clonage moléculaire

- A) L'antibiotique sélectionne les bactéries ayant intégré un plasmide
- B) La sélection blanc bleu nous permet de repérer les bactéries ayant intégré un plasmide avec insert
- C) La sélection blanc bleu fonctionne par activation du gène de la B-Galactosidase
- D) On ne repiquera que les colonies bleues : celles ayant intégrées un plasmide avec insert
- E) Tout est faux

Correction : Clonage Moléculaire

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : BC

- A) Faux, c'est le gène de sélection qui va donner un atout sélectif aux bactéries l'ayant intégré (voir C pour la def du polylinker)
 B) Vrai
 C) Vrai
 D) Faux, aucun rapport bien retenir que : UN VECTEUR = UN INSERT c'est justement comme ça qu'on peut isoler un allèle. On choisira la taille du vecteur en fonction de la taille de l'insert (et pas du nombre d'inserts ...) -> pour un grand gène (beaucoup de nucléotides) on choisira un grand vecteur
 E) Faux

QCM 2 : CD

- A) Faux, Les bactéries ayant intégrées un vecteur, possèdent, grâce à lui, un gène de résistance, elles sont donc ~~sensibles~~ résistantes aux antibiotiques (sorry 😞 c'est pour l'attention en UE11 au concours ça va assez vite il faut rester bien concentrer, mais la prof fait pas tellement ce genre de piège donc tkt si t'es tombé dedans pour ça 😊)
 B) Faux, voir C
 C) Vrai, au niveau du polylinker où l'enzyme coupe et où le l'insert est intégré, on retrouve le gène de la Bêta-Galactosidase. L'insert en plein milieu de la séquence de ce gène le « coupe en deux » il est éteint et donc plus de transcription/ traduction de la protéine Bêta-Galactosidase. Donc on à beau induire son activation avec l'IPTG ça ne sert à rien -> si on met X-Gal la Bêta-Galactosidase ne l'hydrolyse pas comme d'habitude est donc X-gal ne se transforme pas en bleu -> il reste incolore. Au niveau de nos colonies de bactéries on observe une couleur blanche signe que le vecteur à bien intégré l'insert -> c'est ce qui nous intéresse !
 D) Vrai, du coup ce sont celles qui nous intéressent.
 E) Faux

QCM 3 : AD

- A) Vrai
 B) Faux : c'est un signe d'achondroplasie
 C) Faux : cf.B
 D) Vrai
 E) Faux : ET SURTOUT PAS UN SIGNE D'ACHONDROPLASIE

QCM 4 : AB

- A) Vrai : texto du cours
 B) Vrai : texto du cours
 C) Faux : c'est l'inverse : Les **extrémités cohésives** s'hybrideront par **complémentarités des bases** tandis que les **liaisons phosphodiester** sont liés à l'aide d'une **T4 DNA ligase**.
 D) Faux : **REMARQUE DE LA PROF ++** « Le choc thermique ne rend pas les bactéries compétentes, on utilise des bactéries dites « compétentes » (c'est à dire dont la paroi a été rendue perméable) et le choc thermique permet de faire rentrer l'ADN recombinant dans ces bactéries compétentes. »
 E) Faux

QCM 5 : BC

- A) Faux : l'étape schématisée ci-dessous correspond à la transformation ~~transfection~~ bactérienne
 B) Vrai : texto du cours
 C) Vrai : texto du cours
 D) Faux : on fera migrer les fragments sur gel d'électrophorèse
 E) Faux

QCM 6 : ABCD

- A) Vrai
 B) Vrai
 C) Vrai
 D) Vrai
 E) Faux

QCM 7 : ABA) VraiB) VraiC) Faux : La sélection blanc bleu fonctionne par ~~activation~~ inactivation du gène de la B-GalactosidaseD) Faux : On ne repiquera que les colonies ~~bleues~~ blanches : celles ayant intégrées un plasmide avec insert. Colonies bleues = gène B-galactosidase entier = pas d'insert dans le plasmide = on s'en TAPE poubelleE) Faux

6. Séquençage

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Donner la ou les bonne(s) réponse(s) à propos du séquençage :

- A) La méthode Sanger nécessite 4 tubes différents, chacun contenant 1 type de ddNTPs et les 4 types de dNTPs
- B) Sur un électrophorégramme issu d'un séquençage automatique, une mutation se présentera sous la forme d'une superposition de deux pics
- C) La méthode automatisée utilise un code couleur pour différencier les différents nucléotides
- D) Donc, dans la méthode automatisée, l'enchaînement des nucléotides est déterminé par leur couleur, et leur identité par leur taille
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : A propos du séquençage :

- A) Sanger fut le premier à réaliser un séquençage, et utilisait alors 4 tubes, avec dans chaque tube les 4 types de dNTPs, et un seul type de DDNTPs
- B) Un ddNTP n'a plus d'alcool, c'est pour cela qu'il bloque la synthèse lorsqu'il est incorporé par la Taq polymérase
- C) Le séquençage automatisé n'utilise qu'un seul tube car les ddNTPs sont marqués par des fluorochromes
- D) Le séquençage utilise une seule amorce, des dNTPs et des ddNTPs, contrairement à la PCR qui utilise deux amorces et uniquement des dNTPs
- E) Les proposition 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, D, E sont fausses

Correction : Séquençage**2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)****QCM 1 : ABC**A) VraiB) Vrai

On vous met quand même l'ancien item qu'on avait mis : « Cette méthode Sanger utilise des nucléotides fluorescents, alors que la méthode automatisée utilise des nucléotides radiomarqués »

→ avec la correction qu'on voulait vous mettre : Faux, c'est la méthode Sanger qui utilise des nucléotides radiomarqués, et la méthode automatisée des nucléotides fluorescents

REMARQUE DE LA PROF SUR CET ANCIEN ITEM ++ « C'est un peu ambigu car la méthode dite automatisée est basée sur le principe de la méthode de Sanger, le terme automatisé fait appel aux séquenceurs capillaires qui utilisent un laser pour identifier les ddNTP fluo. **En résumé**, la méthode de séquençage Sanger est la réaction de séquence qui utilise des ddNTP, soit radiomarqués (1ere méthode mise en place), soit avec des ddNTP fluo (utilisés aujourd'hui avec les séquenceurs automatique « méthode automatisée ») Dans les 2 cas c'est du séquençage selon la méthode de Sanger. »

C) VraiD) Faux : c'est l'inverse ++E) Faux**QCM 2 : ABCD**A) VraiB) VraiC) VraiD) VraiE) Faux**QCM 3 : ABC**A) VraiB) VraiC) VraiD) Faux : c'est l'inverse ! ++E) Faux

7. Achondroplasie

2019 – 2020 (Pr. Paquis)

QCM 1 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) 2 mutations de FGFR3 peuvent être responsables de l'achondroplasie : la guanine peut être remplacée soit par une adénine, soit par une cytosine
- B) Dans les 2 cas, on aura la substitution d'un acide aminé : une glycine est remplacée par une adénosine
- C) Pour diagnostiquer l'achondroplasie, on peut utiliser deux enzymes différentes : BFML ou HpaII
- D) Après la digestion enzymatique avec BFML ou HpaII, on vérifiera la mutation par séquençage car on ne pose pas de diagnostic avec une seule technique de biologie moléculaire
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s), à propos du diagnostic d'achondroplasie :

- A) Le signe d'appel de l'achondroplasie est échographique
- B) On va donc réaliser une ponction amniotique
- C) On va amplifier l'ADN par PCR, puis vérifier nos produits de PCR, et ensuite on va faire une digestion enzymatique avec les endonucléases BFML et HpaII
- D) Pour finir, nous allons réaliser un séquençage pour vérifier la présence de la mutation, car on ne pose pas de diagnostic avec une seule technique de biologie moléculaire
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : Donner la ou les bonne(s) réponse(s) à propos de l'achondroplasie :

- A) Sa transmission est autosomique récessive
- B) Le gène responsable est WFS1
- C) Les patients atteints présentent une macrocéphalie
- D) Ils peuvent également présenter une hypolordose
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : A propos de l'achondroplasie :

- A) Les patients atteints d'achondroplasie présentent une petite taille, des membres courts et un retard mental
- B) Il existe 2 mutations possibles du gène FGFR3 : la guanine peut être remplacée par une adénosine (dans ce cas on utilisera l'enzyme BFML), ou par une cytosine (on utilise l'enzyme HpaII dans ce cas)
- C) Sur signe d'appel échographique, on prélève de l'ADN par ponction amniotique, puis on l'amplifie par PCR, on vérifie ensuite les produits d'amplification par électrophorèse, et on utilise des enzymes de restriction
- D) Le séquençage n'est pas obligatoire pour poser le diagnostic d'achondroplasie

QCM 5 : 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, D, E sont fausses

QCM 6 : A propos du syndrome de Wolfram :

- A) Les patients atteints présenteront un diabète, une atrophie optique, une taille réduite
- B) Le gène responsable est WFS1
- C) Ce gène code pour la wolframine, ayant une fonction peu connue, et régulant le flux potassique
- D) Ce gène comporte 11 exons
- E) Tout est faux

QCM 7 : A propos de l'achondroplasie :

- A) Le signe d'appel de l'achondroplasie est donc la présence de métatarsiens courts à l'échographie
- B) C'est une maladie rare, mais c'est la plus fréquente des chondrodysplasies
- C) On observe des formes plus graves chez les patients homozygotes
- D) Le gène responsable est FGFR3, qui code pour le facteur de croissance fibroblastique.
- E) Tout est faux

Correction : Achondroplasie**2019 – 2020 (Pr. Paquis)****QCM 1 : ACD**

- A) Vrai
- B) Faux : c'est arginine, pas adénosine !
- C) Vrai
- D) Vrai ++
- E) Faux

QCM 2 : ABCD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : C

- A) Faux : autosomique dominante
- B) Faux : c'est FGFR3
- C) Vrai
- D) Faux : une hyperlordose (déso)
- E) Faux

QCM 4 : BC

- A) Faux : ils ont une intelligence normale
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : il est obligatoire car on ne peut pas poser un diagnostic en se basant sur une seule technique ++
- E) Faux

QCM 5 : A

- A) Vrai
- B) Faux : 90% des enfants atteints ont leurs parents NON ATTEINTS car c'est une NEOMUTATION
- C) Faux : on doit toujours utiliser deux techniques de biologie moléculaire pour poser ce diagnostic ++
- D) Faux : récepteur fibroblastique
- E) Faux

QCM 6 : AC

- A) Vrai
- B) Faux, le signe d'appel est les FEMURS courts ++ (lol le radius)
- C) Vrai +++
- D) Faux, il code pour le RECEPTEUR d'un facteur de croissance fibroblastique +++
- E) Faux

QCM 7 : B

- A) Faux : pas de taille réduite
- B) Vrai
- C) Faux : le flux calcique
- D) Faux : 8 exons
- E) Faux

QCM 8 : BC

- A) Faux : fémurs courts
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Faux : le récepteur d'un facteur de croissance fibroblastique
- E) Faux

8. Cartes de restriction

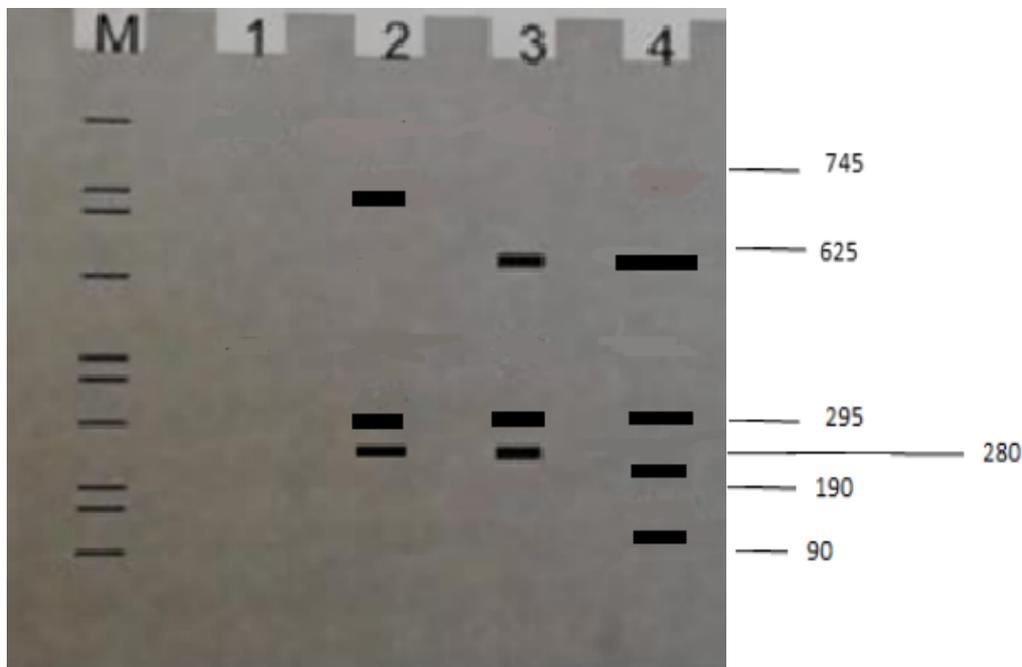
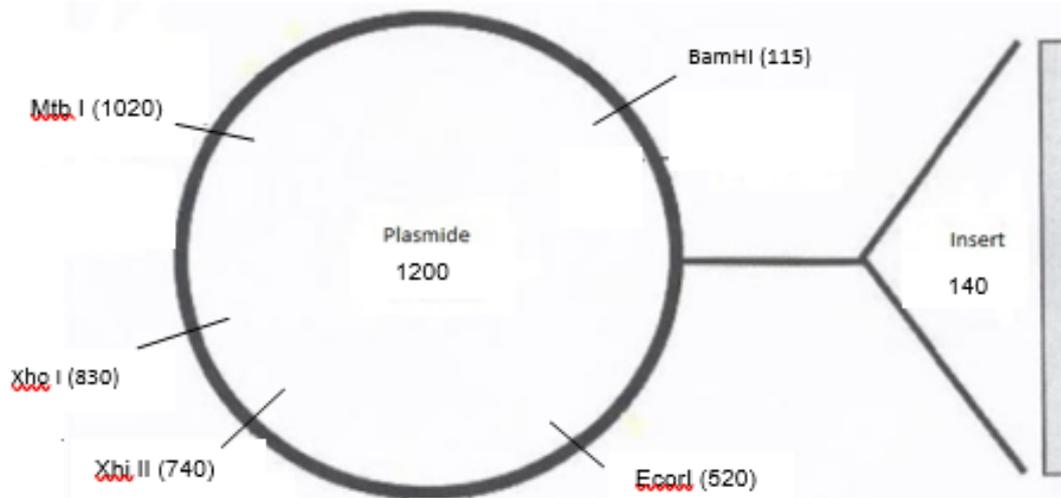
2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Vous réalisez un clonage moléculaire suivi d'une carte de restriction afin de différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.

La taille du produit PCR est de 140 paires de bases. Le produit PCR est inséré en position 230 sur le plasmide.

Les positions des sites de coupure sur le plasmide pour les enzymes de restriction (EcoRI, Mtb I, Xhi II, XhoI, BamHI) sont figurées.

Après digestion par différentes enzymes de restriction, les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique, ci-dessous.



- A) Après digestion simultanée par Mtb I, Xhi II et Bam HI on obtient des fragments de 295pb + 280 pb + 625pb pour un plasmide sans insert
- B) La piste 2 correspond à la digestion d'un plasmide ayant intégré un insert intact (140pb) par les enzymes citées en item A
- C) Le séquençage de cet insert sera donc pertinent et on pourra livrer un diagnostic
- D) La piste 4 correspond à la digestion d'un plasmide sans insert par Mtb I, Xhi II, Bam HI et Ecor I
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : La maladie de Wilson est liée à une mutation autosomique récessive du gène ATPB7 sur le chromosome 13, une mutation est décrite : c. 1069 A->C. Le fils présente les signes cliniques de la maladie mais comme vous êtes des pros et qu'on n'est pas à la foire vous lâchez pas un diagnostic comme ça. Vous réalisez alors une PCR suivie d'un séquençage. (Inspiré des annales)

La séquence nucléotidique qui encadre cette mutation sur un allèle sain est la suivante : TATGCTGAATCCCGGG (la position 1069 est soulignée).

Vous disposez des enzymes de restriction suivantes :

EcoRI, site de restriction : GAATTC

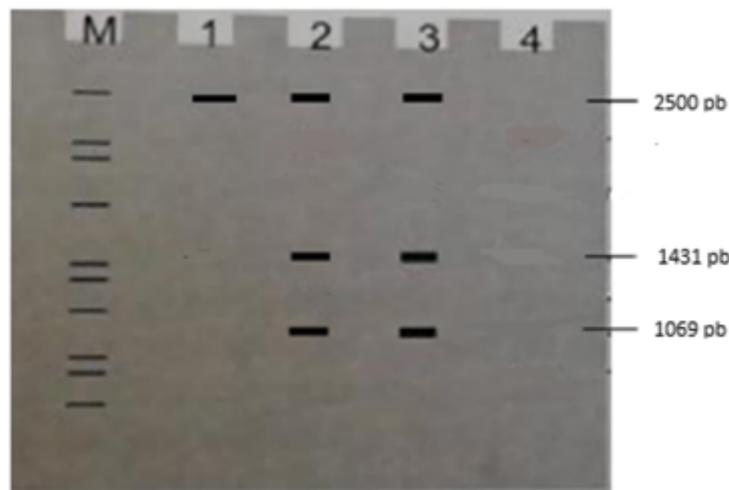
BamHI, site de restriction : GCTGAA

HpaI, site de restriction : GCATCC

SmaI, site de restriction : CCCGGG

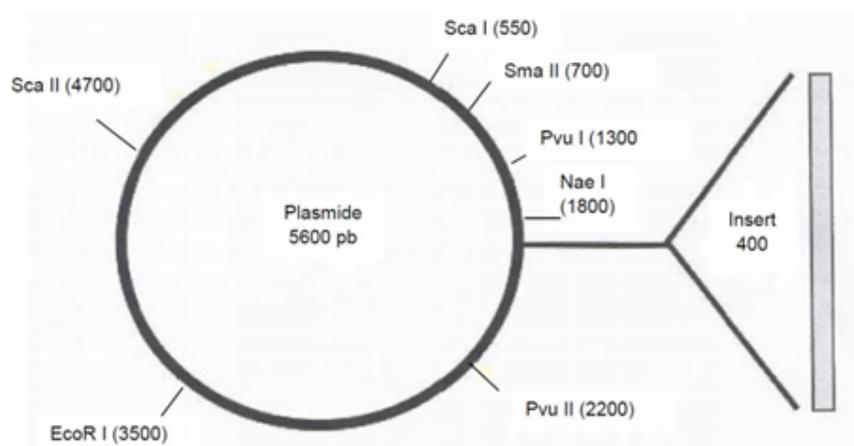
Donnez la ou les vraie(s) :

- A) Pour détecter la présence de la mutation vous pouvez utiliser EcoRI et SmaI
- B) Pour détecter la présence de la mutation vous pouvez utiliser HpaI et BamHI
- C) D'après le gel d'électrophorèse ci-dessous, le fils est porteur hétérozygote donc il est malade
- D) Le fils a forcément reçu son allèle muté de sa mère
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses



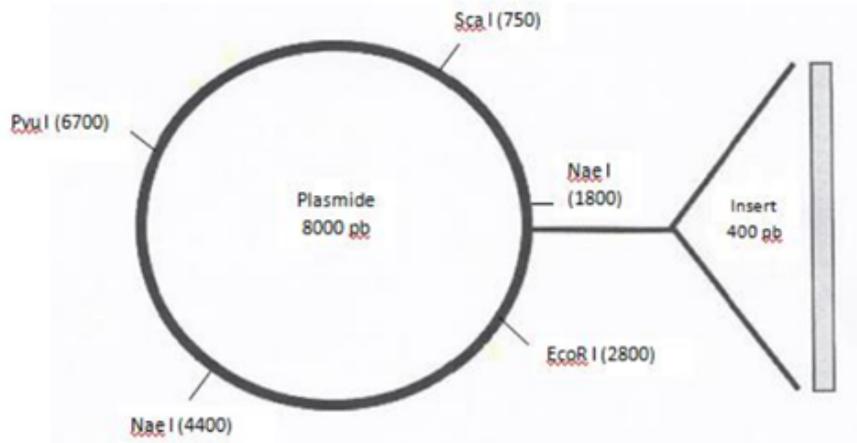
QCM 3 : Vous réalisez un clonage moléculaire suivi d'une carte de restriction afin de différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.

Après digestion par les enzymes Sma II et Nae I, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donner la ou les réponse(s) exacte(s) :



- A) Plasmide sans insert : 700 pb + 1800 pb
- B) Plasmide sans insert : 1100 pb + 4500 pb
- C) Plasmide avec insert : 4900 pb + 1100 pb
- D) Plasmide avec insert : 5600 pb + 400 pb
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

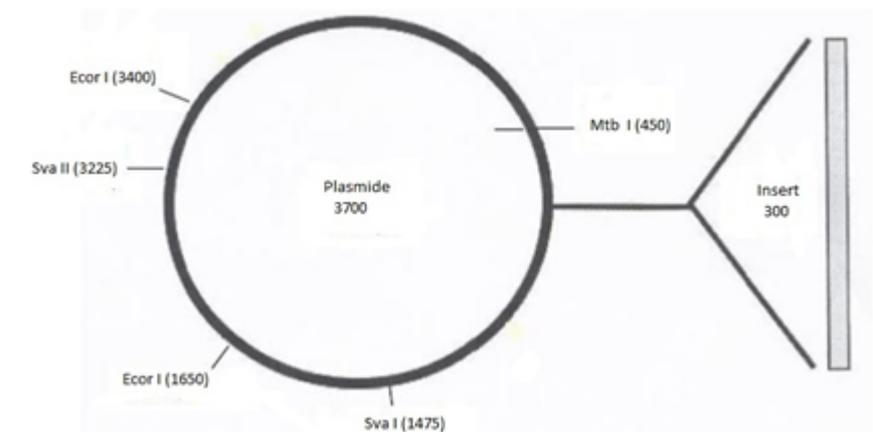
QCM 4 : Vous réalisez une carte de restriction pour différencier les plasmides contenant un insert et ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.



Après digestion enzymatique avec les enzymes Sca I et Pvu I, quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donner le ou les réponse(s) exacte(s).

- A) Plasmide sans insert : 750 pb + 7250 pb
- B) Plasmide sans insert : 5950 pb + 2050 pb
- C) Plasmide avec insert : 6350 pb + 2050 pb
- D) Plasmide avec insert : 4500 pb + 1150 pb
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous réalisez un clonage moléculaire suivi d'une carte de restriction afin de différencier les plasmides contenant un insert de ceux ne contenant pas d'insert. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.

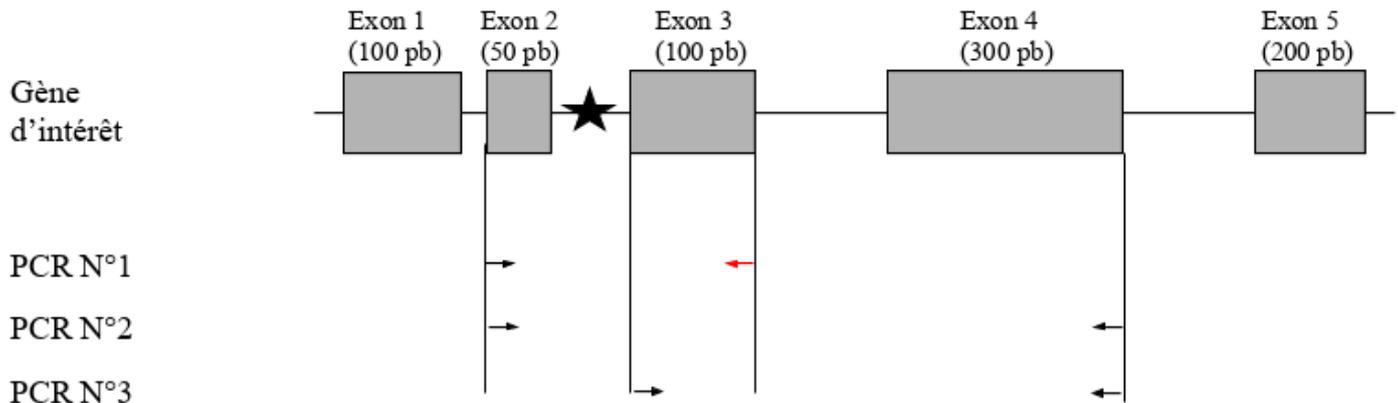


Le fragment est inséré en position 500 sur le plasmide

Après digestion par les enzymes de restriction BamHI, Ecor I et XhoI quels sont les fragments obtenus après migration électrophorétique sur gel d'agarose ? Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Plasmide sans insert : 775 + 2925
- B) Plasmide sans insert : 775 + 1800 + 1125
- C) Plasmide avec insert : 775 + 2100 + 1125
- D) Plasmide avec insert : 775 + 1800 + 1425
- E) Tout est faux

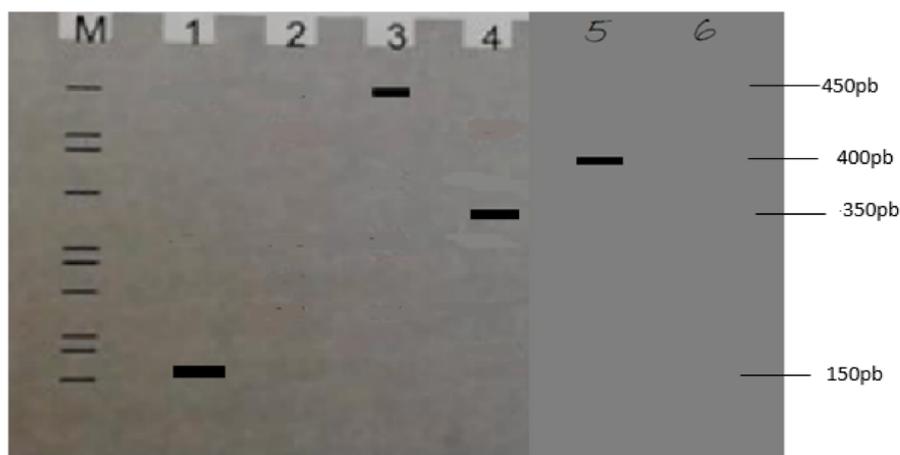
QCM 6 : Vous suspectez dans une famille la présence d'une mutation, dans l'intron 2 du gène *AZE*, pouvant entraîner un site cryptique d'épissage. La mère est porteuse de cette mutation à l'état homozygote, le père n'est pas porteur du variant. Pour déterminer l'effet de cette mutation sur l'épissage 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 propositions, A, B, C, D, E sont fausses

QCM 7 : 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) :

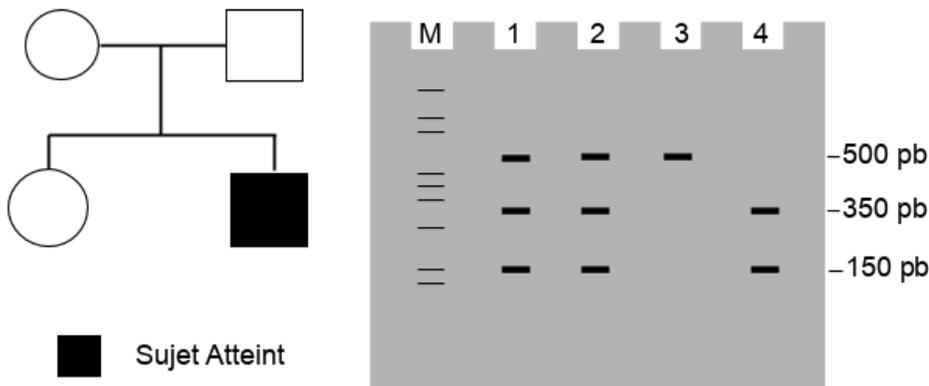
TCAGTGGACCCTAG

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

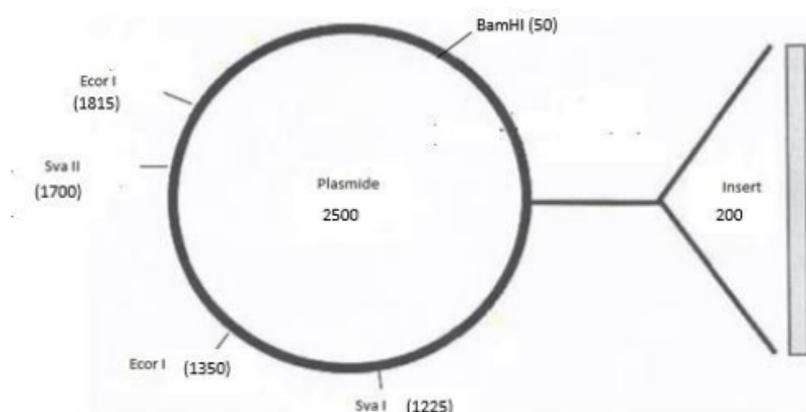


D'après les résultats présentés ci-dessus, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- 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 propositions, A, B, C, D, E sont fausses

QCM 8 : (QCM 9 et 10 Inspirés des annales) Vous souhaitez isoler par clonage moléculaire les produits PCR provenant d'un patient porteur d'une mutation autosomique dominante à l'état hétérozygote (qu'on appellera Mr.007) La taille du produit PCR est de 200 paires de bases et la présence de la mutation crée un site pour l'enzyme O-RNELLA qui clive le produit PCR en 2 fragments de 100 pb. Le produit PCR est inséré en position 300 sur le plasmide. La carte de restriction est schématisée ci-dessous.

Les positions des sites de coupure sur le plasmide pour les enzymes de restriction (EcoRI, BamHI, SvaII, SvaI) sont figurées. Hormis le site O-RNELLA, la mutation ne crée aucun autre site de restriction sur l'insert. Après digestion par différentes enzymes de restriction, les produits de digestion sont analysés sur un gel d'agarose après migration électrophorétique.



Donnez la / (les) vraie(s) :

- A) Après digestion par SvaII, Bam HI, O-RNELLA on obtient des fragments de 850pb et 1850pb pour un plasmide sans insert
- B) Après digestion par SvaII, Bam HI, O-RNELLA on obtient des fragments de 1375pb et 1325pb pour un ADN Recombinant contenant un insert ne portant pas la mutation
- C) Après digestion par SvaII, Bam HI, O-RNELLA on obtient des fragments de 850pb, 350 pb et 1500pb pour un ADN Recombinant contenant un insert portant la mutation
- D) Après digestion par SvaII, Bam HI, O-RNELLA on obtient des fragments de 850pb et 1650pb pour un plasmide sans insert
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses, mais heureusement qu'Ornella votre tutrice d'UE3b à l'air plus aimable en QCM que cette enzyme de restriction

Correction : Cartes de restriction**2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)****QCM 1 : A**

A) Vrai, fragment 1 (Mtb I -> Xhi II) = $1020 - 740 = 280\text{pb}$; fragment 2 (Xhi II -> Bam HI) = $740 - 115 = 625\text{pb}$; fragment 3 (Bam HI -> Mtb I soit le reste en fait) = $1200 - (280 + 625) = 295\text{pb}$

B) Faux, elle correspond à un plasmide ayant intégré un insert de 120pb et non de 140pb -> l'insert a été abimé lors des manip

C) Faux ++, Insert abimé = on ne peut pas interpréter le séquençage au risque de donner un faux diagnostic !

D) Faux, La piste 4 correspond à la digestion d'un plasmide sans insert par Mtb 1, Xhi II, Bam HI et Xho I c'est bien le fragment 1 qui est impacté (on retrouve les autres intacts) donc sans calculer on sait déjà que l'item est faux et que c'est peut-être XhoI qui a coupé en plus des autres (à vérifier en calculant).

E) Faux

QCM 2 : E (inspiré des annales)

A) Faux, cf. B

B) Faux, HpaI reconnaît la séquence mutée : il coupe s'il voit GCATCC donc si au lieu de GAATCC (sain) on a eu la mutation et donc un C au lieu du A -> HpaI marche pour reconnaître la mutation. Par contre BamHI, coupe une séquence saine ! Nous on cherche à sélectionner une enzyme qui détecte la présence de la mutation.

C) Faux, il est hétérozygote et donc comme c'est une mutation récessive, il est sain

D) Faux, la mère est elle aussi hétérozygote : il a très bien pu recevoir son allèle sain de sa mère et l'allèle muté de son père (on ne sait pas on a pas les résultats du père on ne peut pas conclure avec certitude !)

E) Vrai 😊

QCM 3 : B et C

A) Faux

B) Vrai, pour le fragment entre Sma II et Nae II, on fait : $1800 - 700 = 1100$

Et pour l'autre fragment, on fait $5600 - 1100 = 4500$

C) Vrai, on ajoute l'insert de 400 pb au fragment de 4500 pb : $4500 + 400 = 4900$

D) Faux

E) Faux

QCM 4 : BC

A) Faux

B) Vrai, pour le grand fragment entre Sca I et Pvu I, on fait : $6700 - 750 = 5950\text{ pb}$

Pour le petit fragment on fera : $8000 - 5950 = 2050\text{ pb}$

C) Vrai, avec l'insert on rajoutera 400 pb au fragment de 5950 pb : $5950 + 400 = 6350\text{ pb}$

D) Faux

E) Faux

QCM 5 : BD

A) Faux direct : on coupe 3 fois -> on obtient 3 fragments

B) Vrai : $3400 - 1600 = 1800$ (fragment obtenu entre les coupures d'EcoRI et Xho I)

$1600 - 825 = 775$ (fragment obtenu entre les coupures de Xho I et Bam HI)

$3700 - (1800 + 775) = 1125$ (fragment obtenu entre les coupures de Bam HI et EcoRI)

C) Faux

D) Vrai : L'insert est normalement inséré en position 500, dans le fragment de 1125 pb. Si le plasmide a bien intégré d'insert on a donc 3 fragments : ceux de 775 et 1800 pb qui n'ont pas changés et le fragment de $1125 + 300\text{ pb}$ de l'insert = fragment de 1425 pb

E) Faux

QCM 6 : ABCD

A) Vrai, Il y'a un effet les bandes 3 et 4 sont de tailles différentes. Attention le fait qu'on n'ait pas de produit PCR dans les pistes 2 et 6 n'empêche pas de conclure : Les bandes 2 et 6 sont absentes car les primers utilisés sont des séquences de l'exon 3. Si l'exon 3 n'est pas transcrit (dans le cadre de la mutation) alors pas d'hybridation des primers donc pas de PCR et pas de bande. Les bandes 3 et 4 nous permettaient de conclure.

Correction de la prof : « OUI c'est bien vrai, chez la mère vous perdez l'exon 3 car la PCR2 est à 350 au lieu de 450 et que les PCR 1 et 3 ne fonctionnent pas puisque l'exon 3 est épissé »

B) Vrai, l'enfant est forcément hétérozygote (correction de la prof)

C) Vrai, on a compris qu'il y'avait dû avoir un site cryptique d'épissage ayant l'effet décrit dans la correction du A. Maintenant on ne peut pas annoncer cela à la mère sans avoir séquencé exactement son allèle et trouvé la mutation exacte qui est à l'origine de ce site cryptique.

- D) Vrai
E) Faux

QCM 7 : ABCD

A) Vrai, la fille est homozygote sauvage (aucune marque de coupure-> pas de marques à 350 ou 150pb)

B) Vrai, cf. A

C) Vrai, c'est une mutation hétérozygote récessive il faut 2 allèles pour que l'enfant soit considéré comme malade (on parle pas de symptômes « légers » de l'hérédité intermédiaire de biomol !). Il faut donc que le père donne son allèle 50% et que la mère le donne aussi sachant qu'elle est hétérozygote elle aussi ça fait 1 « chance » sur 4 -> 25% de proba

D) Vrai, on remarque 3 traces : une à 500pb témoignant d'un allèle qui n'a pas été coupé par Sma I donc sain, et deux autres traces : une à 350pb et une à 150pb -> témoin d'un allèle coupé par SmaI donc muté.

E) Faux

QCM 8 : CD (E)

A) Faux, on obtient ces fragments après digestion d'un plasmide avec insert sans la mutation

B) Faux, on obtient ces fragments pour un ADN Recombinant contenant un insert ne portant pas la mutation mais digéré par SvaI et BamHI et non SvaII comme dit dans l'item (sorry encore une fois pour vous entraîner à être attentif au concours ça va vite ...) (ps : O-RNELLA ici n'entrait pas en compte étant donné qu'on se plaçait dans le cas d'un insert non muté)

C) Vrai

D) Vrai

E) Vrai <3

9. Protéines de fusion

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : (Inspiré des annales) Pour vérifier l'expression de la protéine VIR-GILE que vous étudiez, vous clonez l'ADN complémentaire codant pour la protéine dans un vecteur d'expression. Indiquez là où les réponses exactes.

- A) Le vecteur d'expression contient les mêmes éléments (polylinker, origine de réplication et gène de sélection procaryote) qu'un vecteur de clonage pour être multipliés dans la bactérie
- B) Afin de pouvoir s'exprimer dans la cellule eucaryote, il va posséder aussi 4 éléments en plus : une région promoteur eucaryote, une origine de réplication et un gène de sélection eucaryote et un tag
- C) L'ajout d'un Tag (ex : marqueurs fluorescent) en N-Term ou en C-term de l'insert forme une protéine VIRGILE de fusion
- D) Cette technique de biologie permet notamment de visualiser des protéines comme les filaments de tubuline dans les cellules
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses, mais Virgile votre Tut d'UE12 est quand même une crème

Correction : Protéines de fusion

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : ABCD(E)

- A) Vrai, texto cours
- B) Vrai, texto cours
- C) Vrai, texto cours Protéine de fusion = ADNc d'intérêt + étiquette
- D) Vrai, texto cours
- E) La photo est là

10. Séquençage Haut Débit

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Donnez la ou les réponse(s) exacte(s) à propos de la NGS :

- A) On fragmente l'ADN en petits morceaux de 200 à 400 pb par des endonucléases bien spécifiques
- B) Les barre-code sont spécifiques à chaque patient tandis que les adaptateurs A et P1 sont les mêmes pour tous, permettant que les microréacteurs soient les mêmes pour tous les patients
- C) Les microréacteurs sont composés : d'un double brin d'ADN à séquencer, d'une sphère entourée de primers, de deux primers A et P1 et de la Taq polymérase
- D) Dans la technologie Illumina, on utilise la variation de pH pour connaître l'ordre d'enchaînement des nucléotides
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : 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, D, E sont fausses

QCM 3 : 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, D, E sont fausses

QCM 4 : 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 ddNTP 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, D, E sont fausses

QCM 5 : A propos des enzymes utilisées en biologie moléculaire, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) Une enzyme de restriction permet de couper de l'ADN double brin au niveau de séquences spécifiques (sites de restriction) qui sont palindromiques
- B) Lorsque les extrémités vecteur/insert ne sont pas compatibles on peut utiliser la Nucléase S1 capable de combler les extrémités cohésives pour en faire des bords francs (activité 5'-3' exonucléasique)
- C) La Klenow est une enzyme à activité polymérase
- D) Dans la technique de NGS, l'étape de ligation des adaptateurs et barre codes, on pourra utiliser notamment des ADN ligases pour lier les adaptateurs sur le fragment d'ADN
- E) Durant cette même étape des polymérases pourront être utilisées afin de combler une extrémité cohésive due à la digestion des endonucléases.

QCM 6 : A propos des techniques NGS et PCR

- A) Pour le NGS, dans le microréacteur on réalise une amplification clonale à partir d'un seul fragment d'ADN qui sera fixé et amplifié sur un support solide, on obtient de nombreuses copies du même un seul fragment d'ADN par sphère
- B) Tandis que dans la PCR on se place dans un milieu contenant de nombreuses séquences d'ADN génomique et on amplifie uniquement les régions qui nous intéressent grâce aux primers.
- C) Au cours de l'étape d'analyse informatique suivant le séquençage, on retrouve notamment l'étape d'alignement qui

consiste au positionnement des séquences générées sur la séquence de référence

D) Cette étape sert notamment à repositionner les séquences et déterminer la séquence de chaque patient (afin de détecter une variation nucléotidique par rapport à la séquence de référence)

E) Tout est faux

Correction : Séquençage Haut Débit

2019 – 2020 (Pr. Bannwarth)

QCM 1 : E

- A) Faux
- B) Faux
- C) Faux, à l'étape des microréacteurs, l'ADN a déjà été rendu auparavant simple brin ++
- D) Faux
- E) Vrai

QCM 2 : B

- A) Faux, On utilise des enzymes non spécifiques, enzymes de restriction = elles ont un site de restriction = spécifique
- B) Vrai, j'avais évoqué les différentes techniques des différentes sociétés mais la prof a changé l'item je vous cite son commentaire : « Dans ce cours, ce qu'il faut retenir ce sont les grandes étapes et principes. Votre question est très bien, il suffirait d'enlever la partie sur les différents fournisseurs qui peut apporter des différences qui n'ont pas grand intérêt à la compréhension de la technique.»
- C) Faux, A la fin de l'étape d'ajout des barres codes et adaptateurs, l'ADN est **double** brin
- D) Faux, on utilise une RNase pour détacher les sondes de captures d'ARN, des brins d'ADN d'intérêt (attention : la chaleur dissocie deux brins d'ADN complémentaire (action sur les liaisons hydrogènes) mais pas ARN-ADN)
- E) Faux

QCM 3 : AB

- A) Vrai, cf schéma des étapes du diapo à connaître (faite vous vos propres schémas vous verrez c'est plus logique une fois qu'on visualise
- B) Vrai, idem que le A mais la prof nous a incité à simplifier ++ l'item
- C) Faux, le brin nouvellement synthétisé s'hybride par complémentarité aux primers de la sphère car à la base l'adaptateur P1 qu'on a mis dans le microréacteur possède la même séquence que celles situées sur la sphère -> du coup le complémentaire de notre séquence sur P1 (obtenu à la fin des étapes de PCR) est bien aussi complémentaire des séquences sur la sphère !
- D) Faux, un microréacteur = un fragment d'ADN= 1 patient donc 1 sphère = 1 patient et 1 puce = 1 sphère -> tout ça il faut que ce soit clair dans vos têtes
- E) Faux

QCM 4 : AC

- A) Vrai, l'amorce A est biotinylée, l'amorce P1 possède une séquence identique à la séquence des primers fixés sur la sphère
- B) Faux, aucun rapport j'ai mélangé toutes les techniques : dans la NGS, on introduit les dNTPs les uns après les autres et s'il y'a complémentarité et que le dNTP est inséré pendant l'élongation alors la liaison libère un H⁺ détecté grâce à la variation de pH et comme on sait quel dNTP on a balancé à ce moment-là on peut en déduire la suite des nucléotides.
- C) Vrai
- D) Faux, ce qui rend faux l'item c'est qu'ici la NGS n'est pas utilisé pour connaître la séquence du fœtus. On n'a pas assez de matériel génétique à disposition pour ça. Le but ici est de détecter une surreprésentation chromosomique. A noter qu'on utilise cette technique pour le dépistage des trisomies 13, 18 et 21 uniquement. Si on sait qu'un gène ZER est sur le chromosome 13, si avec le NGS on retrouve 3 fois ce gène on pourra suspecter une trisomie 13.
- E) Faux

QCM 5 : ACDE

- A) Vrai
- B) Faux, la nucléase S1 a la propriété de cliver les extrémités cohésives pour en faire des extrémités franches → activité 5'-3' exonucléasique.
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Vrai

QCM 6 : ABCD

- A) Vrai
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux du kou

11. QCM Mixtes

2019 – 2020 (Pr. Paquis & Pr. Bannwarth)

QCM 1 : Vous recevez en consultation un couple dont l'enfant est atteint de mucoviscidose (pathologie autosomique récessive). L'analyse du gène CFTR révèle la présence d'une mutation causale à l'état homozygote chez l'enfant. Les parents sont porteurs de cette mutation : le père à l'état hétérozygote, la mère à l'état homozygote.

Concernant le risque pour cette famille d'avoir un 2e enfant atteint, indiquez la ou les réponses exactes :

- A) 0%
- B) 75%
- C) 100%
- D) 50%
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 2 : Parmi ces techniques, lesquelles permettent une étude quantitative de l'ADN :

- A) PCR-RFLP
- B) PCR en temps réel
- C) PCR - Séquençage automatique
- D) NGS
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 3 : A propos des différentes techniques utilisées en biologie moléculaire, la ou les réponse(s) exacte(s) :

- A) En routine, au laboratoire de génétique si l'on veut séquencer un gène, on réalisera des PCR suivi d'un séquençage de nos exons d'intérêts
- B) En pratique courante, après prélèvement du patient, on extraira les ARNm en effet ils sont plus représentatifs des protéines produites par la cellule
- C) Si l'on est confronté à la recherche de mutations dans plusieurs gènes on utilisera la méthode du NGS
- D) En effet le NGS permet le séquençage massif en parallèle de molécules d'ADN individuellement séparées et amplifiées
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 4 : Vous recevez en consultation une famille dans laquelle se transmet une maladie autosomique récessive. Le gène est connu, plusieurs mutations dans ce gène ont été décrites. Quelles est (sont) la (les) méthode(s) que vous pouvez utiliser pour rechercher la mutation causale dans ce gène chez un patient de cette famille :

- A) Le séquençage des produits PCR correspondants aux régions codantes du gène
- B) Une PCR en temps réel
- C) Le séquençage automatique
- D) Une amplification PCR suivie d'une digestion par l'enzyme de restriction BamHI
- E) Les proposition A, B, C et D sont fausses

QCM 5 : Vous recevez en consultation un couple dont la femme est enceinte d'un enfant présentant les signes d'appels échographiques d'une trisomie. Le père est lui-même atteint d'une trisomie 21. Plusieurs formes de trisomies sont décrites et connues (trisomie 21, 18...)

- A) Après prélèvement de liquide amniotique vous réalisez une PCR avec digestion enzymatique du gène FGFR3
- B) Non, non vous réalisez une PCR du gène FGFR3 et puis vous le séquencez directement
- C) Vous réalisez un caryotype car c'est ici une mutation chromosomique et non au niveau d'un gène
- D) Le fait que le père ai une trisomie n'impacte pas sur la probabilité que cet enfant soit lui-même atteint
- E) Tout est faux

QCM 6 : (Inspiré des annales) À propos des caractéristiques des enzymes utilisées en biologie moléculaire, la(les)quelle(s) synthétise(nt) un ADNc (ADN complémentaire) à partir d'une amorce d'ADN hybridée sur un ARNm.

- A) Les endonucléases
- B) La transcriptase inverse
- C) L'ADN Polymérase
- D) Les enzymes de restriction
- E) Les propositions A, B, C et D sont fausses

QCM 7 : Vous suspectez une trisomie 18 chez un fœtus, quelles techniques pouvez-vous utiliser ?

- A) Un DPNI (dépistage pré-natal non invasif), utilisant la technique de PCR en temps réel
- B) Une amniocentèse suivie d'un caryotype
- C) La PCR-RFLP
- D) La PCR en temps réel
- E) Tout est faux

Correction : QCM mixtes

2019 – 2020 (Pr. Paquis & Pr. Bannwarth)

QCM 1 : D

- A) Faux cf.D
B) Faux cf.D
C) Faux cf.D
D) Vrai : La mère et homozygote muté donc elle transmet un premier allèle muté. Comme c'est une maladie autosomique récessive cela dépend donc de ce que transmet le père. Ce 2^{ème} enfant sera atteint s'il reçoit l'allèle muté du père :50% des cas étant donné qu'il a un allèle sain et l'autre muté
E) Faux

QCM 2 : BD

- A) Faux
B) Vrai, la quantité de fluorescence au cycle seuil Ct dépend de la quantité d'ADN de base
C) Faux
D) Vrai, utilisé pour le dépistage pré-natal non invasif
E) Faux

QCM 3 : ACD

- A) Vrai
B) Faux, en **pratique courante** on extrait l'ADN des cellules et non par l'ARN avec lequel il est plus difficile de travailler
C) Vrai
D) Vrai, texto du cours
E) Faux

QCM 4 : AC

- A) Vrai
B) Faux, la PCR en temps réel est une PCR quantitative surtout
C) Vrai
D) Faux, rien ne nous dit qu'EcoRI possède un site de restriction sur l'allèle sain ou muté
E) Faux

QCM 5 : C

- A) Faux : FGFR3 concerne l'achondroplasie_
B) Faux
C) Vrai
D) Faux : Si le père a une trisomie au moment de la méiose il produira une cellule avec 2 chromosomes 21 et une avec un seul. Si le gamète avec 2 chromosomes 21 est utilisé lors de la fécondation l'enfant sera trisomique (2 K 21 du père + 1 K 21 de la mère)
E) Faux

QCM 6 : B

- A) Faux
B) Vrai, la transcriptase inverse produit bien de l'ARN à partir d'ADN en commençant avec une amorce d'ADN = queue de nucléotides T qui s'apparient à la queue poly A des ARNm. NTB : Cette amorce de T est bien de l'ADN car le nucléotide T est remplacé par U dans les ARNm
C) Faux : l'ADN polymérase synthétise de l'ADN à partir d'ADN ++ c'est même pour ça qu'on utilise la reverse transcriptase pour obtenir un ADNc à partir d'un ARNm pour pouvoir ensuite faire notre PCR.
D) Faux
E) Faux

QCM 7 : B

- A) Faux, le DPNI utilise le NGS par contre on peut utiliser le DPNI en cas de suspicion de trisomie 13, 18 ou 21
B) Vrai
C) Faux, PCR-RFLP = échelle nucléotidique pour cibler une mutation connue à l'aide d'une enzyme de restriction (ex : utilisation dans l'achondroplasie)
D) Faux, elle nous permettra d'observer une surexpression génétique (visible en cas de trisomie) mais ne renseignera pas sur la nature (peut être que ce dédoublement est lié à un remaniement chromosomique) ce n'est pas un examen réalisé en cas de suspicion de trisomie
E) Faux