

Vague de question n°2 – Sylvie BANNWARTH

Séquençage

Question 1 : Pouvez-vous nous donner une définition précise de ce que sont les sites donneurs et accepteurs d'épissage ?

Réponse 1 : Les sites donneurs et accepteurs d'épissage correspondent respectivement aux extrémités 5' (GU) et 3' (AG) des introns :

Exon 1 **GU** ——— Intron ——— **AG** Exon 2

Question 2 : Serait-il possible d'avoir une correction pour ce QCM (QCM 1 d'UE 11 2017) ? En particulier sur l'item A "Le variant d'épissage à l'état homozygote est suspecté entre l'exon 3 et 4" ? Les étudiants ne parviennent pas à savoir si ce QCM est vrai ou faux sachant qu'il y a pas de patient témoins ou d'indications sur la tailles des brins lorsqu'il n'y a pas de mutation.

Unité Enseignement 11
2017

QCM 1. Vous recherchez la présence d'un variant d'épissage dans le gène *WFS1* chez un patient suspecté de syndrome de Wolfram. Vous effectuez une extraction d'ARN, suivie d'une étape de transcription inverse pour synthétiser l'ADNc (ADN complémentaire) correspondant. Vous réalisez ensuite deux PCR (PCR1 et PCR2) pour cibler les 2 régions d'intérêt du gène. Le schéma A représente l'ADNc du gène *WFS1*, la stratégie PCR est représentée par les flèches, les 8 exons par des rectangles. Le résultat obtenu après migration électrophorétique sur gel d'agarose des produits PCR est représenté sur le schéma B.

A

ADNc 1 2 3 4 5 6 7 8 Stop

ATG

PCR 1

PCR 2

B

Piste 1 : Marqueur de poids moléculaire
Piste 2 : Produit PCR obtenu avec la PCR 1
Piste 3 : Témoin négatif de PCR obtenu avec la PCR 1
Piste 4 : Produit PCR obtenu avec la PCR 2
Piste 5 : Témoin négatif de PCR obtenu avec la PCR 2

Concernant l'interprétation de ce gel, indiquer la ou les réponse(s) exacte(s).

A- Un variant d'épissage à l'état homozygote est suspecté entre l'exon 3 et l'exon 4
B- Un variant d'épissage à l'état hétérozygote est suspecté entre l'exon 3 et l'exon 4
C- Un variant d'épissage à l'état homozygote est suspecté entre l'exon 7 et l'exon 8
D- Un variant d'épissage à l'état hétérozygote est suspecté entre l'exon 7 et l'exon 8
E- Les propositions A, B, C et D sont fausses

Réponse 2 : Effectivement en absence de témoin ou d'information supplémentaire il y a trop d'ambiguïté dans l'énoncé pour pouvoir répondre, cette question avait été supprimée !!!!

Question 3 : Dans plusieurs QCM d'annales, on ne retrouve pas de témoins négatif dans les électrophorèses. Est ce qu'il faut partir du principe qu'il n'y a pas de contamination et résoudre le QCM normalement ? Ou alors faut-il compter faux tous les item car dans le doute on ne sait pas s'il y a contamination ?

Réponse 3 : Tout dépend de l'expérience qui est à analyser :
Une PCR ne peut pas être interprétée sans un témoin négatif. Par contre, lors d'une digestion enzymatique d'une PCR, comme la PCR a été vérifiée avant l'étape de digestion, il n'est donc pas nécessaire d'avoir le témoin négatif de PCR pour interpréter la digestion

NGS

Question 4 : Dans la technologie Illumina, on précise qu'à la fin de la PCR on clive tous les brins reverse et on garde seulement les brins sens. Mais si on réalise le séquençage sur les brins sens, on obtient la séquence complémentaire du brin d'origine. Pourquoi ne pas garder les brins reverse afin d'obtenir les brins sens après que le séquençage soit réalisé ?

Réponse 4 : Car la technologie Illumina est ainsi faite

Question 5 : L'année dernière les tuteurs ont proposés cet item compté juste et il est indiqué qu'il a été relu par les professeurs : "A propos de la NGS, dans la technologie Illumina, un cluster est un groupe d'amplicons de PCR (fragments identiques) issus d'un seul fragment d'ADN". Dans un cluster on a des brins sens et des brins reverse. Est ce qu'on peut parler de fragments identiques lorsqu'on a des brins sens et leurs séquences complémentaires ? Ou alors est ce que cet item serait à compter faux ?

Réponse 5 : OUI car à l'origine de ce cluster on a un seul fragment et dans ce cas on peut considérer que cette réponse est vraie

Question 6 : Dans l'item "A propos de la NGS, l'analyse informatique des données brutes de séquençage permet d'identifier les variants nucléotidiques" (concours 2019) que voulez-vous entendre par données brutes ?

Les données brutes correspondent aux résultats issues du séquenceur. (Item VRAI)

Est-ce que ça signifie que ce sont des données où l'on n'a pas réalisé de tri (et l'item est donc faux)?

NON (mais je ne sais pas de quel type de tri vous parlez...) ce sont les données de séquence : ATCGCGTAT....

Ensuite ces séquences sont alignées sur la séquence de référence puis les variants qui diffèrent de la séquence de référence sont annotés (on détermine quel est le changement nucléotidique ex :C>G, où il est situé sur le génome, dans quelle partie du gène (intron/exon), quelle est la conséquence de ce changement nucléotidique sur la séquence de la protéine ...) ; ce qui comprend donc l'identification du variant