



Correction du DM n° 3 : Séquençage et NGS

1/	E	2/	BCD	3/	BCD	4/	A	5/	BCD
6/	AC	7/	B	8/	AB	9/	B	10/	AD

QCM 1 : E

- A) Faux : En effet dans le séquençage on utilise qu'une seule amorce complémentaire, néanmoins dans la PCR on en utilise deux (attention il faut bien tout lire) ! En séquençage, on ne cherche pas à amplifier les deux brins comme en PCR. On choisit **un seul des deux brins** et on le lit de bout en bout grâce à une amorce qui sert de point de départ → ça suffit pour obtenir la séquence.
- B) Faux : Dans le séquençage, comme dans la PCR, on utilise une **ADN** polymérase (~~pas une ARN polymérase~~) appelée Taq Polymérase
- C) Faux : L'utilisation de ddNTPS est spécifique du séquençage
- D) Faux : Non, c'est l'introduction d'un ddNTP de façon aléatoire qui bloque la synthèse du fragment d'ADN car il lui manque un groupement OH nécessaire à la liaison suivante complémentaire, on parle de **D**idésoxyribonucléotide
- E) Vrai

QCM 2 : BCD

- A) Faux : Les primers sont des fragments d'ADN simple brin, leur fonction est de s'HYBRIDER avec le fragment d'ADN à amplifier
- B) Vrai : L'étape de séquençage est réalisée après la PCR, les primers pour le séquençage sont donc soient identiques à ceux de la PCR soit à l'intérieur du fragment PCR. En séquençage (Sanger) : On ne lit pas directement tout l'ADN génomique, mais on commence à « lire » à partir d'une seule amorce. Cette amorce doit être placée à l'intérieur du fragment amplifié pour que la lecture se fasse correctement.
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 3 : BCD

- A) Faux : Désolée, c'est très très méchant, mais c'est pour vous pousser à bien lire (c'est le but d'un DM), le fragment migre de la **cathode (-) vers l'anode (+)**
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 4 : A

- A) Vrai
- B) Faux : Non, ici on utilise pas la PCR-RFLP, on sait quel gène est impliqué mais on séquence tous les exons car **on ne connaît pas** la mutation précise. Ainsi, on peut identifier la mutation pathogène compatible avec le phénotype du patient parmi tous les variants trouvés
- C) Faux : Voir B
- D) Faux : Désolée, c'est n'importe quoi et c'était juste pour vous embrouiller, partez du principe que si vous ne l'avez pas lu et que ça ne vous dit rien du tout, ça pourrait être un piège !
- E) Faux

QCM 5 : BCD

- A) Faux : Toute la justification associée à pourquoi cet item est faux se trouve dans les items B, C et D, c'est du texte cours pour vous pousser à bien apprendre cette partie <3
- B) Vrai
- C) Vrai
- D) Vrai
- E) Faux

QCM 6 : AC

- A) Vrai : Texte cours, c'est la définition
- B) Faux : Elle est venue APRES le séquençage de Sanger
- C) Vrai
- D) Faux : Elle permet de séquencer la TOTALITE du génome y compris les régions introniques

E) Faux

QCM 7 : B

A) Faux : Non non non, l'ajout de barre-code spécifique à chaque patient permet justement de faire le séquençage de plusieurs patients en même temps

B) Vrai : Les adaptateurs servent à ce que toutes les extrémités 5' et 3' soient identiques et donc qu'on puisse amplifier l'ensemble de nos fragments d'ADN avec uniquement un seul couple de primer (1 primer sens + 1 primer reverse). Ils servent également à attacher nos fragments d'ADN sur la PCR.

C) Faux : J'at tout mélangé, ce qu'il faut absolument c'est que chaque extrémité 5' soit identique à l'extrémité 5' d'un autre patient pour que tout soit amplifié ensemble (idem pour l'extrémité 3'), ça n'a aucun intérêt spécial que les extrémités 5' et 3' soient identiques entre elles

D) Faux : Non ThermoFischer, c'est les sphères métalliques

E) Faux

QCM 8 : AB

A) Vrai : Texte cours

B) Vrai

C) Faux : C'est la méthode utilisée pour ThermoFischer ! Pour Illumina, on utilise la fluorescence.

D) Faux : Même justification que la C !

E) Faux

QCM 9 : B

A) Faux : Le principe reste évidemment le même, c'est-à-dire amplification clonale puis séquençage, peu importe la façon dont ces 2 méthodes procèdent

B) Vrai

C) Faux : Piège très méchant (et peu probable à l'examen mais c'est pour vous pousser à bien bien apprendre), la liste est exhaustive et il manque l'ADN polymérase (elle est essentielle pour fabriquer nos fragments d'ADN complémentaire)

D) Faux : C'est la méthode utilisée pour Illumina ! Pour ThermoFischer, on utilise les variations de pH.

E) Faux

QCM 10 : AD

A) Vrai : Texte cours

B) Faux : Non non, avec l'évolution des techniques de biologie moléculaire, séquencer est devenue rapide et facile 😊

C) Faux : Ça c'est du bullshit pour vous faire douter mais non justement c'est très dur d'interpréter → On peut mettre 4 à 5 ans voire plus à donner un diagnostic car il a fallu trouver la fonction de la protéine, comprendre, faire le lien avec la clinique (rendre des variants pour rendre des variants n'a pas de sens)...

D) Vrai : Texte cours

E) Faux

Courage, je sais que ce DM était pas facile, j'ai fait pas mal de pièges, repris des points un peu plus compliqués pour vous pousser à :

1) Comprendre les points difficiles

2) Retenir les notions clés

3) Vous titiller sur des détails pour que vous puissiez voir le cours sous tous ses angles

Ne vous désespérez pas pour ce cours sur le séquençage, avec de l'entraînement, ça va le faire et vous allez voir que c'est beaucoup plus simple que ce que vous croyez <3

Vous êtes les boss, et vous pouvez être fiers de vous d'avoir fait ce DM 😊

La team Biomol/Gé vous embrasse et croit fort en vous !