



# PACES

Correction

## UE1B – ED n°5

16, 17, 18 Février 2021

Rédigé par MARDI WINNER !!!

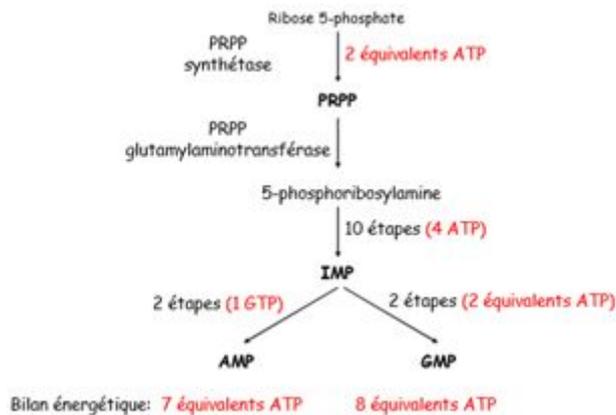
---

<u>QCM 1 : AE</u>	<u>QCM 13 : ACD</u>	<u>QCM 26 : ABCD</u>
<u>QCM 2 : CE</u>	<u>QCM 14 : ACD</u>	<u>QCM 27 : BCD</u>
<u>QCM 3 : CDE</u>	<u>QCM 15 : BCD</u>	<u>QCM 28 : E</u>
<u>QCM 4 : CDE</u>	<u>QCM 16 : C</u>	<u>QCM 29 : BCD</u>
<u>QCM 5 : ACE</u>	<u>QCM 17 : A</u>	<u>QCM 30 : ACE</u>
<u>QCM 6 : ACD</u>	<u>QCM 19 : AE</u>	<u>QCM 31 : CD</u>
<u>QCM 7 : E</u>	<u>QCM 20 : BD</u>	<u>QCM 32 : BCD</u>
<u>QCM 8 : ABCDE</u>	<u>QCM 21 : CD</u>	<u>QCM 33 : B</u>
<u>QCM 9 : BC</u>	<u>QCM 22 : A</u>	<u>QCM 34 : BE</u>
<u>QCM 10 : ABCDE</u>	<u>QCM 23 : CE</u>	<u>QCM 35 : ABD</u>
<u>QCM 11 : BCE</u>	<u>QCM 24 : BD</u>	<u>QCM 36 : AD</u>
<u>QCM 12 : AD</u>	<u>QCM 25 : ACE</u>	<u>QCM 37 : BDE</u>

## QCM 1 : AE

A. **VRAI**, en effet le **PRPP** est le premier composé formé lors de la synthèse des bases puriques. Il est utilisé dans la synthèse des bases aussi bien puriques que pyrimidiques. Dans le cas des bases **puriques**, la synthèse du PRPP par la **PRPP synthétase**, à partir de ribose-5P est une réaction consommant 2 équivalents ATP. On considère la quantité de PRPP comme **limitante**. En l'absence de PRPP, la synthèse *de novo* des **bases puriques et pyrimidiques** ne peut avoir lieu.

Dans le cas des bases **pyrimidiques**, le PRPP intervient lors de l'étape catalysée par OPRTase (Orotate phosphoribosyltransférase) transformant l'orotate en OMP. C'est l'étape **limitante et régulée** de la synthèse des bases pyrimidiques.



B. **FAUX**, attention, c'est un piège récurrent. Les **bases puriques activent la Carbamyl Phosphate-synthétase** qui permet la synthèse de dihydroorotate, qui est l'étape d'engagement dans la synthèse des bases **pyrimidiques**. Les bases puriques vont donc **activer la synthèse des bases pyrimidiques**. En revanche, les bases pyrimidiques **ne jouent pas de rôle régulateur** sur la synthèse des bases puriques.

C. **FAUX**, l'**ADN normal est l'ADN-B**. Il existe différents types d'ADN :

- **ADN-B** : ADN normal, **hydraté**. L'enroulement de cet ADN se fait par la **droite** et possède **10 pb par tour**.
- **ADN-A** : ADN **déshydraté**. L'enroulement se fait lui aussi par la **droite** avec **11 pb par tour**. En revanche la déshydratation de l'ADN entraîne la formation d'un trou au centre de l'hélice, dû à l'absence de liaisons hydrogènes entre les bases des deux brins d'ADN composant l'hélice.
- **ADN-Z** : ADN en zigzag. Pour ce type d'ADN, l'**enroulement se fait par la gauche**, il possède **12 pb par tour**. C'est la forme la moins stable. Elle est notamment due à l'alternance de guanine et de 5-méthylcytosine (G-5MetC-G-5MetC...).

D. **FAUX**, les hernies sont des structures secondaires dues à un **repliement d'un ARN simple brin sur lui même**. Ces structures secondaires de l'ARN sont permises sur de courtes séquences complémentaires. Parmi les structures secondaires de l'ARN, on retrouve 2 possibilités :

- Les bases sont **appariées**, l'ARN se replie sous forme de **tiges**.
- Les bases sont **non appariées**, l'ARN pourra alors se replier en **hernie, boucle** ou en **épingle à cheveux**.

E. **VRAI**, afin de produire de l'AMP il faut passer par plusieurs étapes.

1. Synthèse du PRPP : consomme 2 équivalents ATP (ATP → AMP).
2. Synthèse de l'IMP : consomme 4 ATP.
3. Synthèse de l'AMP : consomme 1 équivalent ATP (GTP → GDP).
3. Ou synthèse du GMP : consomme 2 équivalents ATP (ATP → AMP).

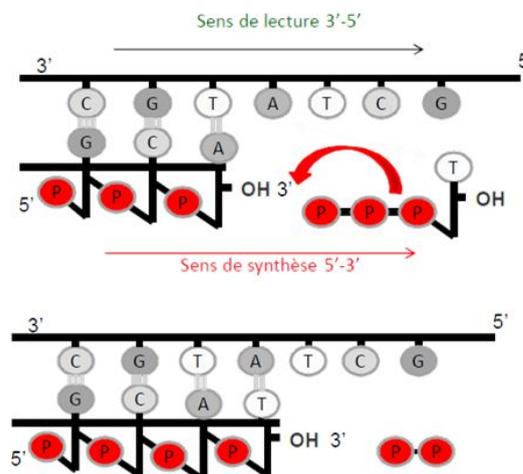
Au final la synthèse des bases puriques est très consommatrice en énergie : **IMP consomme 6 équivalents ATP**, **AMP consomme 7 équivalents ATP** et **GMP consomme 8 équivalents ATP**. C'est pourquoi, dans les tissus à renouvellement rapide (moelle osseuse, peau et intestin), la synthèse des bases puriques se fait préférentiellement par le biais du recyclage, afin d'éviter une trop grande consommation d'énergie.

## QCM 2 : CE

- A. **FAUX**, en effet, il existe **plusieurs dizaines de milliers d'origines de réplication** dans le génome, soit **plusieurs centaines par chromosome**. Ces origines de réplication sont des séquences spécifiques d'ADN de quelques centaines de nucléotides, riches en A et T, qui seront reconnues par le complexe ORC.
- B. **FAUX**, en phase G1 c'est le **complexe ORC** qui va reconnaître les origines de réplication et s'y fixer. Ensuite, ORC va s'associer à **CDC6** et **CDT1** et le **complexe MCM** va se fixer de part et d'autre d'ORC : cela correspond à la formation du **complexe de pré-réplication** qui reste inactif jusqu'à l'entrée en phase S.
- C. **VRAI**, les bases de l'ADN sont reliées par des **liaisons hydrogène** : on retrouve une **double liaison entre A et T**, et une **triple liaison entre C et G**. Lors de la réplication, il faut séparer les deux brins en rompant ces liaisons. Pour cela, le complexe MCM possède une **activité hélicase**. Il progresse par **hydrolyse d'ATP** sur de l'ADN simple brin.
- D. **FAUX**, pour fonctionner les ADN polymérases nécessitent des **désoxyribonucléotides triphosphates** ou **dNTP**, et non monophosphates (dNMP). En effet, lors de la polymérisation, l'ADN polymérase incorpore un nouveau nucléotide par attaque du 3'OH libre du brin en cours de synthèse grâce à l'énergie qui est donnée par la **rupture des liaisons phospho-anhydrides** des dNTP. Si nous avons des dNMP alors il n'y aura pas l'énergie nécessaire à la polymérisation car il n'y aura aucune liaison phospho-anhydride à rompre.

Rappel : les ADN polymérases nécessitent 3 choses :

- des désoxyribonucléotides triphosphates ou dNTP,
- des amorces d'ARN,
- une matrice.



- E. **VRAI**, en effet, la réplication des extrémités des chromosomes est incomplète : à chaque réplication, **l'extrémité 5'** du brin néosynthétisé va être **raccourcie**. De ce fait, **la longueur des télomères est le reflet du nombre de mitoses** et donc du vieillissement cellulaire.

Rappel : plus le télomère est long plus la cellule est jeune ; plus le télomère est court plus la cellule est vieille.

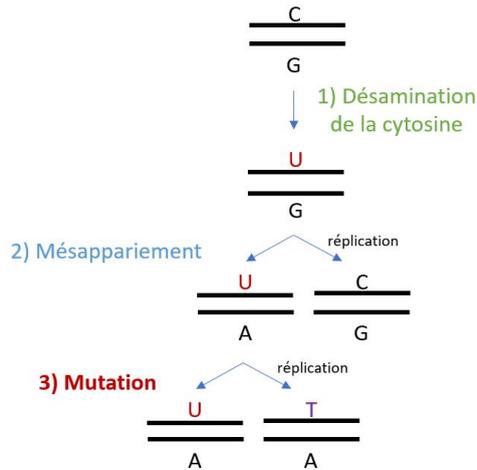
### QCM 3 : CDE

- A. **FAUX**, la **monosomie** du chromosome X, est une anomalie du **nombre** de chromosomes. Les individus atteints de cette maladie possèdent seulement un chromosome X et pas de chromosome Y, soit la nomenclature 45 X0.
- B. **FAUX**, au moment de la **polymérisation** peut se produire un **mésappariement**. Si ce mésappariement n'est pas réparé par le système de réparation cellulaire, la **mutation** apparaîtra à la **prochaine réplication**.
- C. **VRAI**, lors de la polymérisation, l'ADN polymérase peut glisser sur l'ADN et ainsi manquer la lecture d'une base. Ce qui entraîne la non réplication de la base et donc une délétion.

Rappel : un glissement de l'ADN polymérase peut également induire une insertion (notamment au niveau de courtes séquences répétées en tandem).

- D. **VRAI**, la désamination d'une cytosine conduit à la formation d'uracile. L'uracile s'apparie à une adénine qui **lors de la réplication suivante** s'apparie à une thymine. Ainsi la mutation se note C>T. On parle ici de transition car on remplace une base purique par une autre base purique.

-



### Rappels :

- **Transition** : remplacement d'une purique par une purique ou d'une pyrimidique par une pyrimidique.
- **Transversion** : remplacement d'une purique par une pyrimidique ou inversement.

E. **VRAI**, les dimères de thymine intracaténaïres se forment sous l'influence des rayons UV. Ils correspondent à une distorsion de la double hélice d'ADN, c'est une mutation qui se réalise entre 2 thymines qui sont **reconnues comme une seule et même base**. Cela explique la fréquence des **délétions** qui surviennent à la réplication suivante.

### QCM 4 : CDE

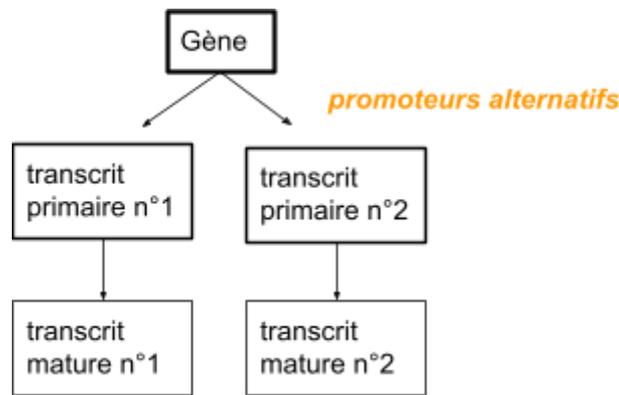
- A. **FAUX**, 99% des réparations des erreurs réplcatives ont lieu pendant la **phase S**. Les erreurs réplcatives sont majoritairement des **mésappariements**, et sont réparées par le système MMR ou par l'activité 3'-5' exonucléasique de l'ADN polymérase.
- B. **FAUX**, le mécanisme MMR (MisMatch Repair) se déroule **pendant la réplication**. Ce système n'implique pas les mêmes protéines chez les eucaryotes (MSH/MLH) et les procaryotes (mutHLS). Une altération de ce système chez l'Homme est responsable de 10% des cas de cancers du côlon.
- C. **VRAI**, les lésions sont majoritairement réparées par des mécanismes post-réplcatifs (= après la réplication). Une lésion est une **mutation de l'ADN induite par l'action d'un agent mutagène** ( $\neq$  erreur réplcative spontanée).
- D. **VRAI**, le système NER (Nucleotide Excision Repair) fait intervenir l'ADN polymérase  $\delta$  ou l'ADN polymérase  $\epsilon$  qui sont très processives (= très rapides) grâce à leur liaison à l'anneau protéique **PCNA**.
- E. **VRAI**, la recombinaison homologue est un système de réparation de l'ADN qui concerne les altérations doubles brins. La recombinaison homologue se sert du brin sain comme modèle afin de réparer le brin altéré. Ce système peut se servir du **2<sup>ème</sup> brin répliqué de la fourche de réplication** pour réparer les **dimères de thymine**, ou de **l'autre molécule d'ADN du chromosome homologue présent dans la cellule** (même région chromosomique) lors de **cassures doubles brins**.

### QCM 5 : ACE

A. **VRAI**, même s'il existe 4 ARNm matures, il y a seulement **deux transcrits primaires** parce qu'il n'y a que 2 promoteurs alternatifs.

**Rappel** : deux transcrits matures proviennent d'un même transcrit primaire si et seulement si ils ont les mêmes extrémités 5' (même site d'initiation) et la même extrémité 3' (= même site de polyadénylation).

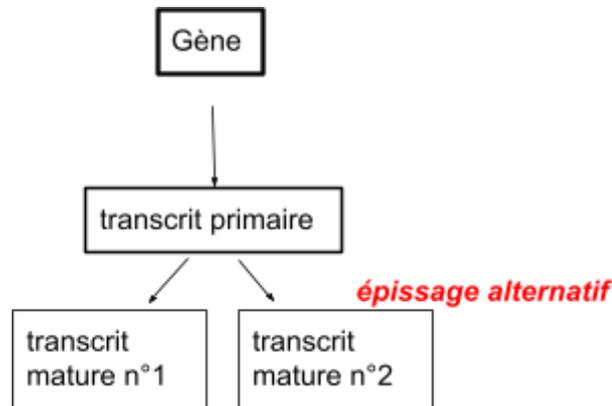
Les **promoteurs alternatifs** présentent une régulation qui se déroule **dès la transcription**. Pour deux promoteurs différents on aura donc **deux transcrits primaires différents**.



B. **FAUX**, les transcrits W1 et W2 (comme on le voit sur le schéma ci-dessus) **ne dérivent pas du même transcrit primaire**. Ils sont obtenus à partir de **promoteurs de la transcription différents** : ce ne sont pas les modifications co/post-transcriptionnelles avec l'épissage qui les différencient, mais la transcription elle-même.

Les modifications co/post-transcriptionnelles comme l'épissage permettent de différencier un transcrit primaire en plusieurs transcrits matures comme W1 et W1a ou W2 et W2a.

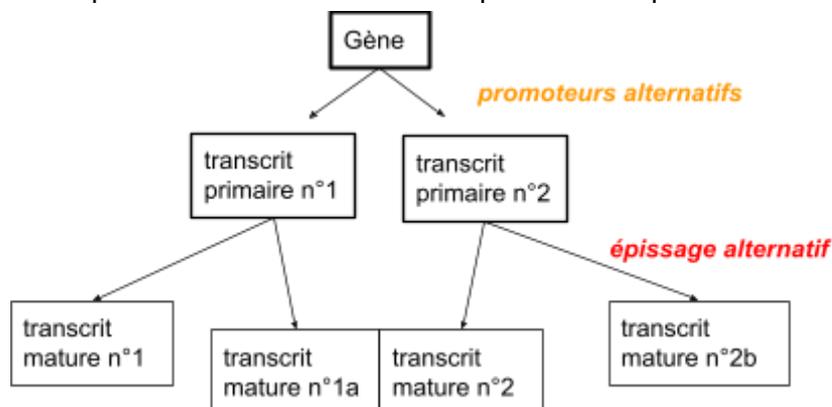
**L'épissage alternatif** est un **processus post-transcriptionnel**. Cela veut dire que la différenciation des transcrits primaires en transcrits matures s'est faite, non pas lors de la transcription mais **après** celle-ci : le **transcrit primaire est donc le même**.



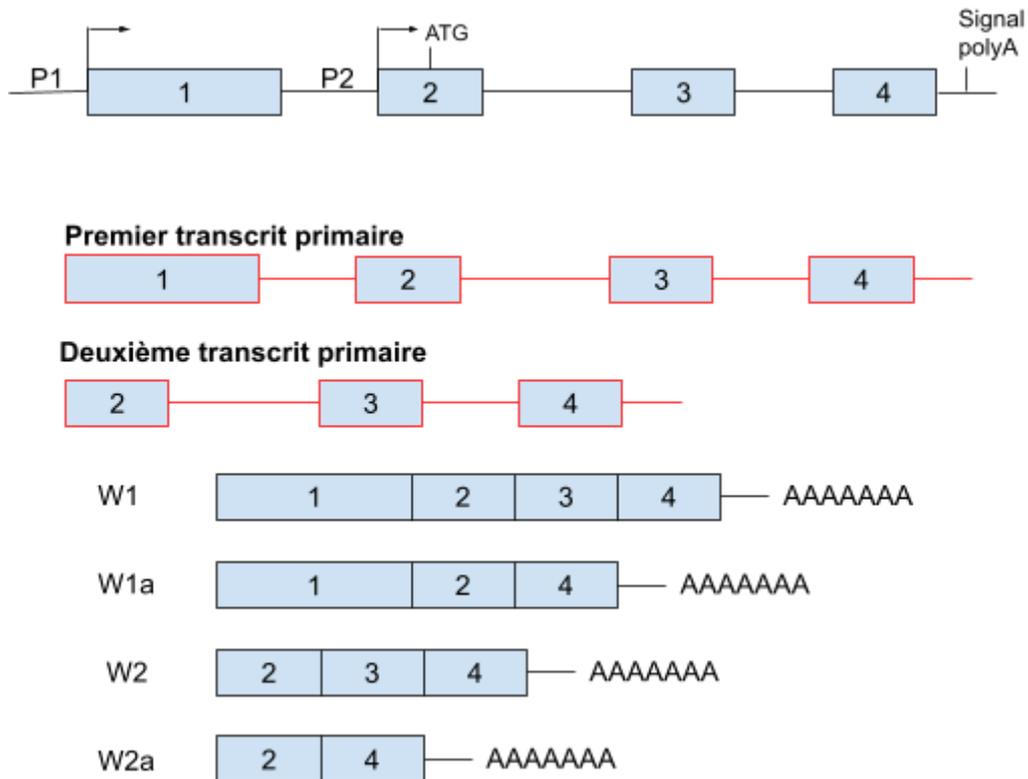
C. **VRAI**, dans le cerveau, seul le **promoteur P1** est transcriptionnellement actif. Cela se voit sur la figure 2 : seul le promoteur P1 présente une activité transcriptionnelle. Ainsi, le complexe de pré-initiation de la transcription PIC se fixe sur le promoteur P1, soit environ 30 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription +1 représenté par une flèche. Au niveau de P2, des facteurs spécifiques de la transcription viennent inhiber la mise en place du PIC.

D. **FAUX**, dans le cœur, les deux promoteurs sont actifs, donc il est possible de former 2 transcrits primaires. S'il y a aussi un épissage alternatif dans cet organe, alors celui-ci peut former les **4 transcrits matures (W1, W1a, W2, W2a)**.

Sur le schéma ci-dessous, un gène mettant en jeu deux promoteurs et un épissage alternatif comme régulateurs de la transcription donnera deux transcrits primaires et quatre transcrits matures :



Ainsi, sur le schéma ci-dessous, on voit que la transcription du gène WARRIOR ne donne au maximum que **deux transcrits primaires et quatre transcrits matures** :

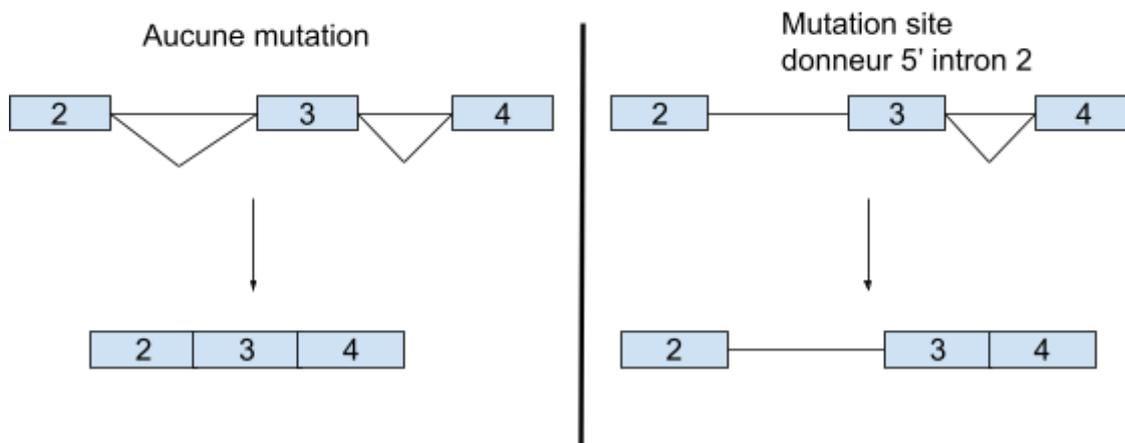


Sur ce schéma, les deux transcrits primaires différents sont donc obtenus à partir de la régulation par **promoteurs alternatifs**. Le “premier transcrit primaire” donnera les ARNm matures **W1 et W1a**. Cette différence de transcrits matures se fait en **fonction de l'épissage** (conservation ou épissage de l'exon 3). Le “deuxième transcrit primaire” donnera quant à lui les ARNm matures **W2 et W2a**.

- E. **VRAI**, dans le rein, seul le promoteur P2 est actif (sur la figure 2, seule l'activité transcriptionnelle de P2 est présente). Le PIC se fixe donc un peu en amont de l'exon 2, tout comme les facteurs **généraux**. Cependant, des **facteurs spécifiques** de la transcription peuvent également se fixer au niveau du **promoteur proximal**. En effet, ils peuvent se fixer **PARTOUT SAUF SUR LA TATAbox** : le promoteur proximal n'étant pas uniquement constitué de la TATAbox, des facteurs spécifiques peuvent s'y fixer.

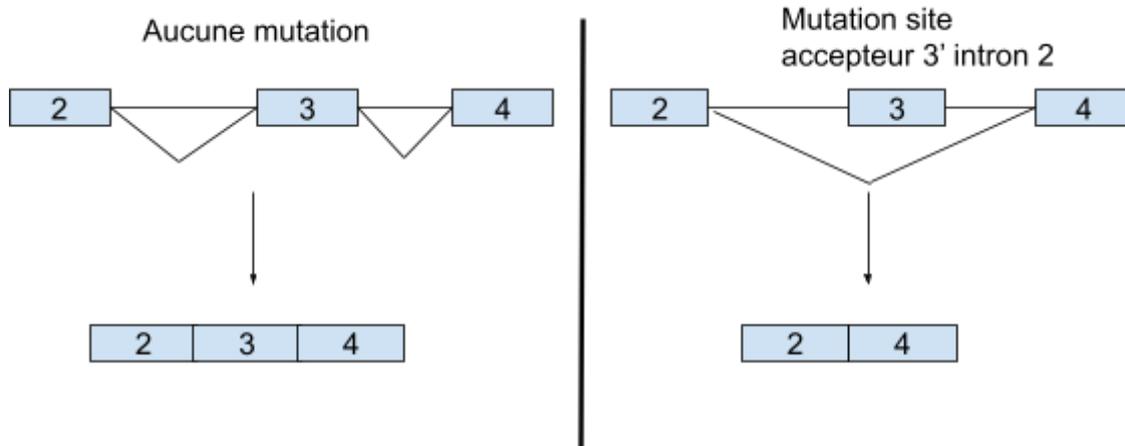
### QCM 6 : ACD

- A. **VRAI**, il s'agit de la **polyA polymérase PAP**. Elle permet de polymériser une suite de nucléotides formés d'adénosines qui participent à la **stabilité de l'ARNm** ainsi qu'à **l'efficacité de la traduction**. Le brin matrice du gène WARRIOR ne présente en aucun cas une séquence polyT (TTTTT) : la polyA polymérase ne nécessite **pas de matrice** pour poser une séquence polyA (AAAAA).
- B. **FAUX**, la mutation du site donneur d'épissage en 5' de l'intron 2 **empêcherait l'épissage de cet intron** (saut d'intron) et on obtiendrait plutôt le transcrit suivant :



L'absence de l'exon 3 peut cependant être expliquée par la **mutation du site accepteur d'épissage en 3' de l'intron 2** : le site de branchement présent dans l'intron 2 devra alors trouver un autre site accepteur pour remplacer celui muté :

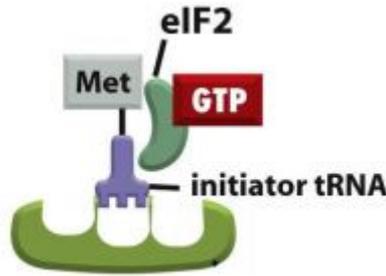
- soit il y a utilisation d'un **site cryptique d'épissage**, qui peut se former par exemple au milieu de l'exon 3,
- soit, dans le cas présent, où tout l'exon 3 est épissé, et le site donneur en 5' de l'intron 2 utilise le **site accepteur en 3' de l'intron 3** :



- C. **VRAI**, le codon initiateur de la traduction se trouvant **au niveau de l'exon 2**, la présence ou l'absence de l'exon 1 sur le transcrit mature n'influence pas la structure de la protéine obtenue après la traduction. Excepté l'exon 1, les ARNm matures W1 et W2 sont identiques, les protéines obtenues à partir de ces transcrits seront donc identiques.
- D. **VRAI**, si l'exon 3 possède un nombre de nucléotides qui n'est pas un multiple de 3, son absence ou sa présence dans un transcrit **modifie le cadre de lecture pour tous les nucléotides en aval de celui-ci**. Si le codon STOP habituel est présent dans l'exon 4 lors d'un épissage normal comme c'est le cas pour le transcrit W1, le transcrit W2a possèdera un décalage du cadre de lecture et **le codon STOP utilisé sera forcément différent**.
- E. **FAUX**, la méthionine codée par le premier codon porte l'extrémité **NH<sub>2</sub>** libre de la protéine : l'allongement de la chaîne polypeptidique se fait **de l'extrémité N terminale à l'extrémité C terminale**.  
**Mnémono** : une protéine se lit dans le sens N vers C, comme Numerus Clausus (NC).

### QCM 7 : E

- A. **FAUX**, les histones sont des protéines dont les ARNm qui les codent ne possèdent **pas de queue polyadénylée**. Or, tous les transcrits matures ici en présentent une : ils ne peuvent donc pas former d'histones après traduction.
- B. **FAUX**, c'est une **méthionine**. Si vous avez répondu vrai, vous avez commencé par le début de la séquence présentée dans l'énoncé. Or ici on vous demande quel est le premier acide aminé de la **protéine** et pas de la séquence ! La traduction ne commence **qu'une fois le premier AUG rencontré**. Cet AUG, donnant une méthionine, le premier acide aminé correspond à une méthionine. Toutes les protéines commencent par une méthionine.
- C. **FAUX**, il existe **20 aminoacyl-ARNt synthétases** pour 20 acides aminés. Une aminoacyl-ARNt synthétase associe toujours le même acide aminé avec un ARNt. L'ARNt, lui, peut être différent pour un même acide aminé : il en existe 48 et ils diffèrent selon leur anticodon.  
**Remarque** : l' aminoacyl-ARNt synthétase peut prendre en charge plusieurs ARNt mais un seul acide aminé.
- D. **FAUX**, tant que le codon initiateur de la traduction n'est pas rencontré par le complexe d'initiation de la traduction, la petite sous-unité se déplace **sans la grande**. En effet le **complexe d'initiation** est composé de la petite sous-unité ribosomique, d'un ARNt initiateur lié à une méthionine et de la protéine eIF2 liée au GTP :



E. **VRAI**, ils se lient bien au même anticodon : 5'-IAG-3' ou 3'-GAI-5'. Les codons qui codent la leucine ici sont 5'-CUA-3' et 5'-CUC-3'. Le 3<sup>ème</sup> nucléotide de ce codon réalise un **appariement flottant** avec le 1<sup>er</sup> nucléotide de l'anticodon (inosine I) de l'ARNt. Cet appariement flottant explique que la liaison soit labile et que l'inosine I puisse s'apparier avec **plusieurs nucléotides différents**. Ainsi les deux codons CUA et CUC pourront lier le **même anticodon** et donc le **même ARNt** qui sera appelé **ARNt isoaccepteur** : cela explique qu'il n'y ait que 48 ARNt pour 61 codons codants des acides aminés.

*Rappel : l'inosine (I) peut se lier à une uracile, une cytosine ou une adénine.*

### QCM 8 : ABCDE

A. **VRAI**, pour extraire de l'ADN, on va suivre plusieurs étapes :

1. Premièrement, on peut **recueillir le sang sur EDTA** (anticoagulant).
2. On **centrifuge** le tube pour séparer les différentes phases en fonction de leur densité.
3. On **élimine le plasma** : en effet le plasma est une matrice extracellulaire, donc **sans noyau**. Or, on **cherche de l'ADN donc on ne garde que les cellules possédant un noyau**.

*Rappel : suite à la centrifugation le plasma est retrouvé sous forme de surnageant dans le tube à essai.*

B. **VRAI**, continuons les différentes étapes d'isolement des cellules sanguines :

4. Les globules rouges (GR) **ne possédant pas de noyau**, sont également éliminés. Pour cela, on utilise une solution **hypotonique** : les GR se remplissent d'eau par **équilibre osmotique** pour les diluer, jusqu'à éclater. Ainsi, il ne reste que les **cellules nucléées : les globules blancs car ils sont plus résistants**.

C. **VRAI**, maintenant que les cellules sanguines nucléées sont isolées, il faut en extraire l'ADN.

5. Pour accéder au matériel nucléaire, il faut en effet **lyser** non seulement la **membrane plasmique** mais aussi **l'enveloppe nucléaire**. Pour cela on utilise une **protéinase K** (kinase) qui permet la libération de l'ADN, se retrouvant ainsi libre dans le milieu.

Pour continuer les étapes :

6. On ajoute du **phénol** et du **chloroforme** pour dénaturer toutes les protéines liées à l'ADN. Après centrifugation, on récupère seulement le surnageant contenant l'ADN.

D. **VRAI**.

7. La précipitation de l'ADN se fait grâce à l'ajout **d'éthanol froid et des sels** et est en effet **visible à l'œil nu** sous forme de filaments blancs (*photo ci-dessous*).



E. **VRAI**, l'ARN est un matériel difficile à extraire car il est dégradé par les ribonucléases présentes notamment sur notre peau. C'est pourquoi toute extraction d'ARN se fait en présence de **sels chaotropiques** (comme le thiocyanate de guanidine) qui **inhibent ces nucléases**.

### QCM 9 : BC

A. **FAUX**, il existe plusieurs facteurs influençant l'hybridation et sa stabilité :

- La **longueur des fragments** : plus ils sont **longs** plus l'hybridation est stable.
- La **nature des bases** : plus la quantité de **bases CG est importante** plus l'hybridation est stable.

- La **force ionique** (= présence de sels dans le milieu) : plus la force ionique est **élevée**, plus l'hybridation est stable.
- La **température** : plus la température est **basse**, plus l'hybridation est stable.
- Les **mésappariements** : **moins il y en a**, plus l'hybridation est favorisée

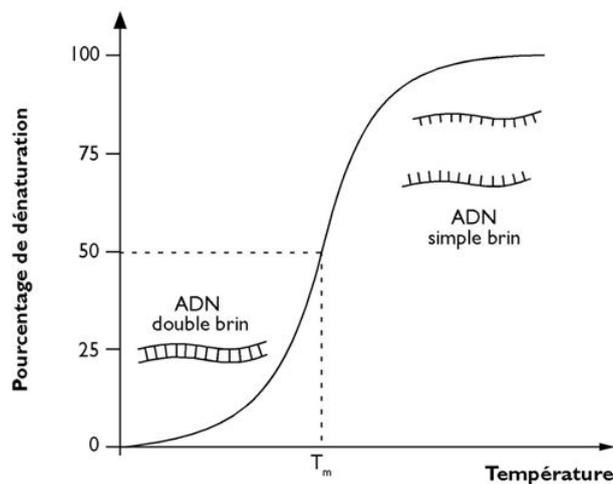
B. **VRAI**, la stringence représente les conditions physico-chimiques de l'hybridation.

Forte stringence	Faible stringence
Température élevée Salinité faible	Température faible Salinité élevée

La faible stringence va autoriser des hybridations pour des **molécules peu homologues** donc il peut y avoir des **mésappariements**. On aura un **bruit de fond non spécifique** puisque l'hybridation ne le sera pas.

À l'inverse, en conditions de **forte stringence**, on sera beaucoup plus spécifique, donc on aura une hybridation uniquement pour des molécules **complètement homologues**. Le signal sera donc **plus faible** puisqu'il y aura moins de liaisons, mais elles seront plus spécifiques.

C. **VRAI**, la **température de dénaturation** ou **température de fusion** (bien connaître les synonymes) représente la température au point d'inflexion de la courbe où **50% de l'ADN est sous forme simple brin et 50% sous forme double brin**.



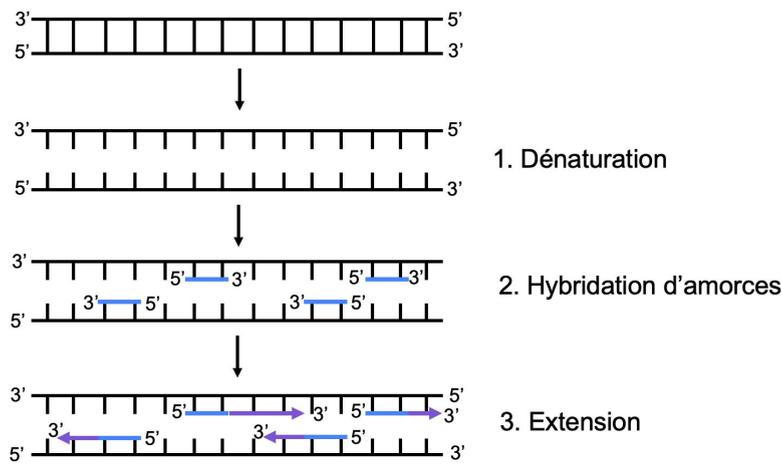
D. **FAUX**, ce phénomène de fusion ou de dénaturation peut être mis en évidence par l'augmentation de l'absorption mesurée par la **densité optique (DO) à 260 nm** lorsque l'on chauffe progressivement la solution dans une cuve en quartz.

*Rappel : on mesure l'absorption à 260 nm car c'est la longueur d'onde de l'absorbance maximale des bases azotées.*

E. **FAUX**, si la température diminue, le phénomène est **réversible** : on observera alors une diminution de la densité optique et une réassociation des brins sous forme de double brins.

### QCM 10 : ABCDE

- A. **VRAI**, les sondes sont **simples** brins car elles sont utilisées pour s'hybrider avec une séquence cible d'ARN ou ADN, également simple brin obtenue après dénaturation.
- B. **VRAI**, les séquences nucléotidiques des sondes peuvent correspondre à des fragments d'**ADN**, d'**ADNc** ou d'**ARN**. Mais, dans la majorité des cas, on utilise des **oligonucléotides de synthèse** qui sont des courts fragments d'ADN ou d'ARN de maximum 200 pb obtenus par synthèse chimique.
- C. **VRAI**, le multiamorçage au hasard se déroule en 3 étapes :
- **Dénaturation** du fragment utilisé pour faire la sonde de façon à obtenir une séquence **simple brin**.
  - **Hybridation d'amorces au hasard**.
  - **Extension des amorces** avec des nucléotides normaux et un nucléotide radiomarqué.



D. **VRAI**, le marquage par fluorescence requiert la présence d'un **fluorochrome** comme la **digoxigénine** ou les **cyanines** qui vont permettre de révéler la sonde.

*Rappel* : En pangénomique, lors de l'utilisation des biopuces d'expression ou de la technique CGH-array l'ADN de référence est marqué en vert par la cyanine 3 et l'ADN à tester en rouge par la cyanine 5.

E. **VRAI**, au cours de l'hybridation, une étape de **lavage** est réalisée. Lors de cette étape, les sondes **homologues** de la cible **restent accrochées** grâce à une hybridation **forte**. Cependant, les sondes **non homologues** vont être **éliminées** car leur hybridation est **instable**.

#### **QCM 11 : BCE**

A. **FAUX**, le gel d'agarose permet de séparer les fragments d'ADN **selon leur taille**. En effet, tous les fragments d'ADN ont la **même charge** : ils sont chargés **néativement** (dû à la présence de phosphates dans les nucléotides qui les constituent). Donc ici la séparation ne pourra pas se faire en fonction de la charge, elle se fera uniquement en fonction de la **taille** : les petits fragments d'ADN iront plus loin que les longs fragments d'ADN. .

C. **VRAI**, le BET ou **Bromure d'Éthidium** est un **agent intercalant**. Il est très utilisé dans l'étude du génome. Cet agent intercalant est particulier : il s'intercale entre les bases des deux brins de l'ADN. De plus, le BET permet la révélation des brins d'ADN marqués par **fluorescence sous UV**. Mais attention, c'est un agent dangereux, cancérigène, du fait de cette faculté.

D. **FAUX**, le **gel de polyacrylamide** fonctionne comme un **tamis moléculaire**. En effet, les mailles du gel de polyacrylamide permettent de retenir les fragments de grande taille, et laissent passer les plus petits fragments. La **distance de migration** est **inversement proportionnelle au logarithme du poids moléculaire** du fragment d'ADN.

E. **VRAI**, cf. item C.

#### **QCM 12 : AD**

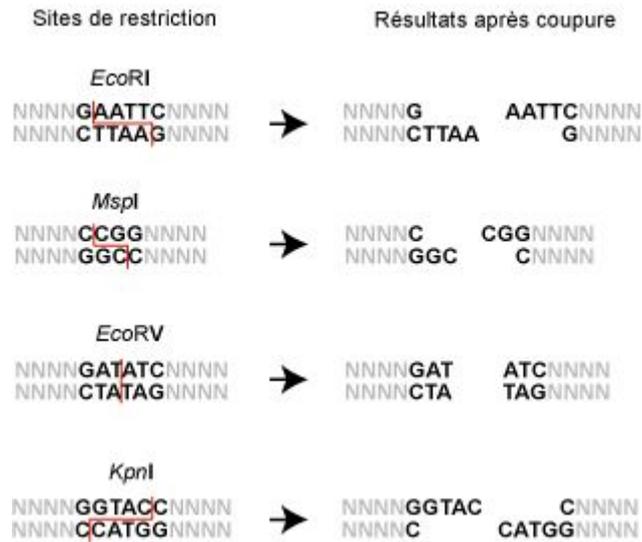
A. **VRAI**, les enzymes de restriction coupent l'ADN à un **endroit très précis** et de manière **reproductible**.

B. **FAUX**, elles reconnaissent une séquence d'ADN **double brin** de 4 à 8 paires de bases. Les séquences reconnues sont **palindromiques** : elles se lisent de la même manière dans le sens 5'-3' et dans le sens 3'-5'.

C. **FAUX**, en effet, **la fréquence de coupure dépend de la taille de la séquence reconnue** : plus la séquence sera longue, plus la fréquence de coupure va diminuer.

Par exemple, si on a une séquence qui contient seulement 4 bases, les sites de coupures seront assez fréquents car il n'est pas rare de retrouver cette séquence dans le gène : on a ainsi une coupure toutes les **250 bases**. Par contre, si le palindrome fait 8 bases, alors la fréquence de coupure va diminuer car il sera plus dur de trouver exactement la même séquence : dans ce cas-là, on aura une coupure toutes les **65 000 bases**.

D. **VRAI**, les enzymes de restriction peuvent générer soit des **bouts francs**, soit des **extrémités sortantes** (= cohésives = décalées). Dans le cas d'une coupure à extrémités sortantes, les extrémités 3' et 5' sont décalées.



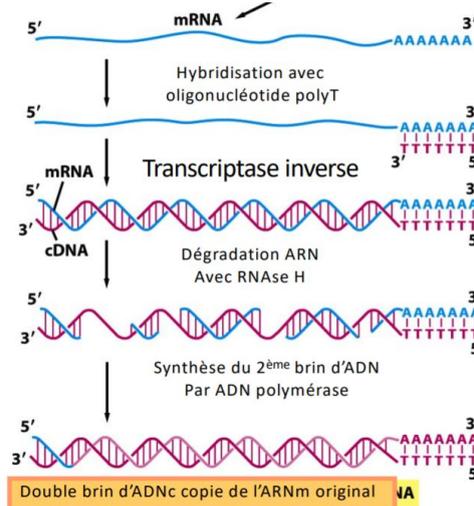
Sur le schéma ci-dessus, les enzymes **EcoRI**, **MspI** et **KpnI** réalisent une coupure à **extrémités sortantes**, tandis que l'enzyme **EcoRV** réalise une coupure à **bouts francs**.

L'enzyme **Marge** réalise donc une **coupure à extrémités 3' sortantes** : ici se sont les les extrémités 3' qui sont décalées.

E. **FAUX**, voir item D.

### QCM 13 : ACD

- A. **VRAI**, la transcriptase inverse est une **ADN polymérase ARN dépendante**. Elle permet la formation d'**ADN complémentaire** à partir d'**ARN messager**.
- B. **FAUX**, elle permet la formation de banques d'ADNc à partir d'ARNm car l'ADNc est plus stable que l'ARNm.  
*Rappel : l'ADNc est la copie exacte de l'ARNm.*
- C. **VRAI**, en effet l'amorce polyT se fixe au niveau de la queue polyA de l'ARNm.  
*Rappel : la queue polyA se trouve en 3' de l'ARNm, l'ADN polymérase lit l'ARN de 3' vers 5' et polymérise de 5' vers 3', l'amorce se trouve donc au niveau de la queue polyA, en 5' de l'ADNc nouvellement formé.*
- D. **VRAI**, la transcriptase inverse polymérise de l'ADN à partir d'ARN, ainsi, **dans un premier temps** un hybride ADN/ARN est formé. Dans un second temps il y a action de RNases qui détruisent l'ARN puis réplication du brin d'ADN complémentaire, afin de former de l'ADNc **double brin**.



E. **FAUX**, cf. item D, il y a action d'une **RNase** qui permet de détruire l'ARN.

### QCM 14 : ACD

- A. **VRAI**, la PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) est basée sur la polymérisation de séquences spécifiques d'ADN. La réaction a lieu dans un thermocycleur, ce qui permet de faire des cycles de réplication de ces séquences. Pour sélectionner la zone d'ADN à amplifier, on incorpore des **amorces spécifiques de la séquence d'intérêt**. On met une amorce sur le brin sens et une amorce sur le brin anti-sens. Une fois

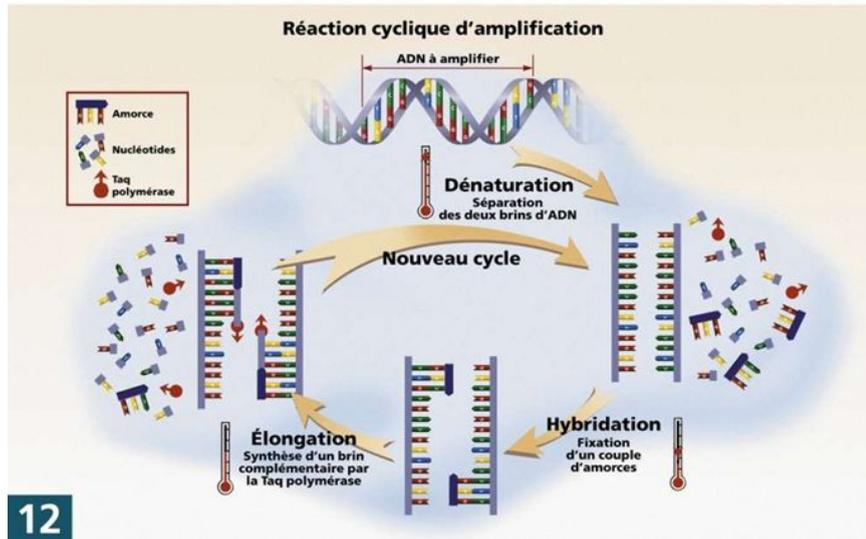
qu'un nombre suffisant de cycles a été réalisé (aux alentours de 30 à 40 cycles), on se retrouve avec une grande quantité d'ADN de la séquence définie.

B. **FAUX**, les différentes étapes d'une PCR sont permises par un thermocycleur qui induit des cycles de variations de températures précises qui correspondent chacune à une étape.

- **90°C** : **dénaturation** de la double hélice d'ADN pour séparer les 2 brins l'un de l'autre
- **50 ou 60°C selon l'amorce** : **hybridation** des amorces aux extrémités 5' des brins d'intérêts
- **72°C** : **polymérisation** à partir des amorces grâce aux Taq polymérase (qui sont des protéines thermorésistantes, dont l'activité de synthèse est optimale à 72°C).



### L'amplification de fragments d'ADN *in vitro* : la PCR



C. **VRAI**, à chaque cycle PCR, on a un brin matrice à partir duquel on polymérise un brin fils. On se retrouve donc avec 2 fois plus de brins à la fin d'un cycle. **Le rendement théorique de la PCR est donc de  $2^n$** . En pratique, les amorces peuvent se dégrader, les polymérase peuvent perdre leur efficacité, ... donc le rendement **réel** n'est que de  **$1,85^n$** .

D. **VRAI**, **si une PCR est contaminée** par des produits de PCR précédente, **alors l'amplification n'est plus spécifique**. En effet, chaque séquence présente dans la solution amplifiée sert de modèle à la polymérase du cycle suivant. Cela peut conduire à des faux-positifs lors de démarches diagnostiques. On pourra identifier 3 types de contamination :

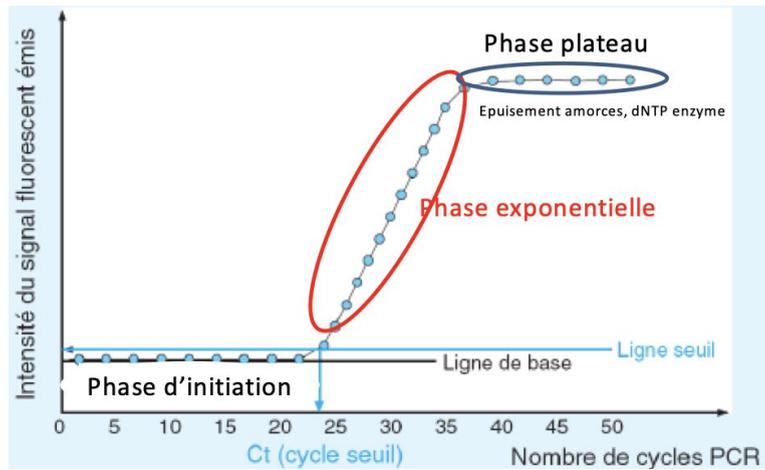
- contamination par des **protéines** : rapport  $260/280 \leq$  à 1,8.
- contamination par les **solvants organiques** : rapport  $260/230 \leq$  à 1,8.

E. **FAUX**, la PCR classique ne permet d'amplifier qu'**une seule** région d'intérêt. C'est la **PCR multiplex** qui permet d'amplifier **plusieurs régions de l'ADN en même temps**, grâce à l'incorporation de plusieurs couples d'amorces et d'un marquage qui permet de différencier chaque séquence amplifiée.

#### QCM 15 : BCD

A. **FAUX**, l'intensité de l'émission de fluorescence est **proportionnelle** à la quantité de produits amplifiés pendant la PCR. En effet, plus il y a de produits formés, plus il y aura de sources de fluorescence.

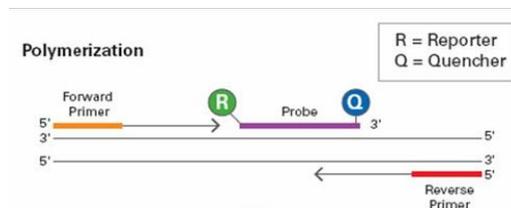
B. **VRAI**, à contrario, lors de **la phase d'initiation** les signaux détectés correspondent à un bruit de fond **aspécifique**.



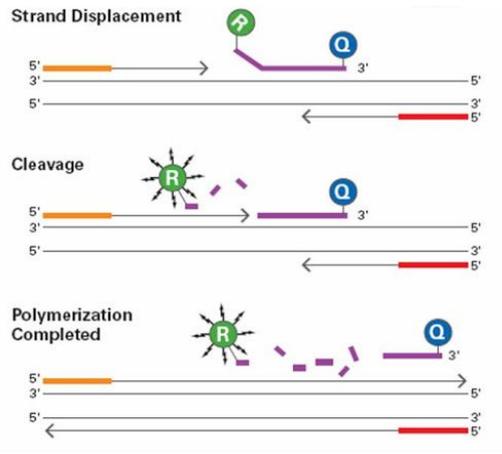
- C. **VRAI**, avec le Ct on connaît le nombre de cycles nécessaires pour que la fluorescence devienne détectable. En fonction de ce nombre de cycles, on peut déduire la quantité d'ADN initialement présente (à chaque cycle, la quantité d'ADN double).
- D. **VRAI**, le **nombre de cycles** nécessaire pour que la fluorescence atteigne une valeur seuil est **inversement corrélé** au **nombre de molécules cibles à l'origine**. C'est-à-dire que plus il y a de molécules d'ADN à l'origine, plus l'amplification sera rapidement détectée. Au contraire, si on a peu de molécules cibles au départ, il faudra plus de cycles d'amplification pour atteindre le seuil de détection.
- E. **FAUX**, c'est l'inverse. Dans la technique **Taq Man**, on utilise une sonde possédant un **quencher en 3'** et un **fluorophore en 5'**. Cette sonde marquée va s'hybrider spécifiquement à la séquence à amplifier. Lors de l'élongation, la Taq polymérase va détruire la sonde libérant ainsi le **fluorophore en 5'** dans le milieu d'étude. La libération de fluorophore est donc proportionnelle à l'amplification de la séquence étudiée: la spécificité est donc très importante.
- Le **SYBR Green** est un **agent intercalant** des doubles brins d'ADN qui n'émet de la fluorescence qu'une fois qu'il est intercalé et n'est pas spécifique d'une séquence. La fluorescence émise est proportionnelle à chaque double brin formé, mais il n'y a pas de spécificité de séquence.

#### QCM 16 : C

- A. **FAUX**, les sondes (en général) sont des séquences nucléotidiques qui vont s'hybrider sur l'ARN ou l'ADN (simple brin), mais elles ne sont en aucun cas dépendantes d'une amorce.
- B. **FAUX**, la sonde s'hybride spécifiquement **au milieu** de la séquence à amplifier. Cette sonde possède un **fluorophore en 5'** et un **quencher en 3'** : la présence du quencher va bloquer l'émission de fluorescence du fluorophore.



- C. **VRAI**, au moment de l'élongation de la PCR, il y a **destruction de la sonde par la Taq polymérase** ce qui entraîne la **libération du fluorophore** et sa fluorescence dans le milieu.



- D. **FAUX**, l'intensité de fluorescence est **proportionnelle** à la quantité de sondes détruites et donc à l'amplification. En effet, plus la quantité de sondes détruites est importante, plus il y a de fluorophores libérés.
- E. **FAUX**, la méthode TAqMan est une méthode plus **spécifique** mais également **plus coûteuse**. De façon habituelle on utilise donc la méthode SYBR Green, moins coûteuse, qui est encore aujourd'hui la technique de référence.

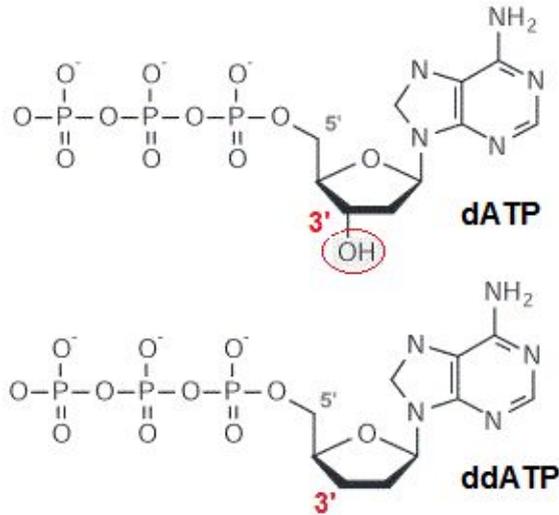
### QCM 17 : A

- A. **VRAI**, la technique de ddPCR permet, à partir d'un échantillon d'eau et d'huile, de créer des **gouttelettes d'eau** dans un **milieu lipidique**. Cela correspond à l'étape de **distribution par émulsion**.
- B. **FAUX**, dans **une gouttelette** d'eau il y a seulement **0 ou une seule molécule d'ADN**. Cela permet ensuite de distinguer les **gouttelettes positives** (qui ne contenaient qu'une seule molécule d'ADN avant PCR), et les **gouttelettes négatives** (qui ne contenaient aucune molécule d'ADN et donc ne font pas de PCR).
- C. **FAUX**, justement, chaque gouttelette de PCR est **indépendante** et devient son propre "réacteur" de PCR. Il n'y a donc aucun mélange entre les différentes gouttelettes créées.
- D. **FAUX**, s'il y a  $10^9$  gouttelettes positives à l'issue de l'expérience, alors il y avait au moins  $10^9$  copies du gène dans l'échantillon. Le fait qu'il n'y ait **qu'une seule** (ou zéro) molécule d'ADN par gouttelette, combiné à l'**indépendance des gouttes**, permet *in fine*, après amplification **PCR**, de **compter le nombre de gouttelettes positives**. Ce comptage nous permet de savoir combien de molécules d'ADN étaient présentes dans l'échantillon du début.
- E. **FAUX**, la ddPCR est une technique de quantification **absolue**. En effet, on **compte directement le nombre de gouttelettes positives** à la PCR (c'est-à-dire le nombre de gouttelettes où il y a eu amplification du matériel génétique). Ce comptage correspond au **nombre de copies du gène** dans l'échantillon du début. Nous n'avons donc pas besoin de comparer l'échantillon à une référence.

Nota Bene : la PCR quantitative est quant à elle une technique de quantification relative.

### QCM 18 : A

- A. **VRAI**, pour pouvoir polymériser la séquence complémentaire à l'ADN que l'on souhaite séquencer, il faut d'abord **dénaturer l'ADN** pour obtenir de l'**ADN simple brin**. En effet, ce simple brin va servir de **matrice** à l'ADN polymérase qui va synthétiser un fragment d'ADN par **complémentarité** de base.
- B. **FAUX**, les **dd**idésoxyribonucléotides sont des désoxyribonucléotides qui n'ont **pas de OH en 3'** (voir schéma ci-dessous). De ce fait, **l'élongation du brin est impossible** car on ne peut pas réaliser la liaison entre le 3'OH d'un nucléotide et le 5'P du suivant. Ce ddNTP sera incorporé de manière **aléatoire** au fragment d'ADN en cours de synthèse : son incorporation induira un **arrêt de la polymérisation**.



C. **FAUX**, le séquençage selon Sanger nécessite de préparer **4 mélanges** : la seule différence est le ddNTP utilisé (ddATP, ddCTP, ddTTP ou ddGTP). Dans ces mélanges, les ddNTP sont présents en quantité **très minoritaire** → ils représentent **moins de 1%** du mélange.

Rappel : un mélange de séquençage contient :

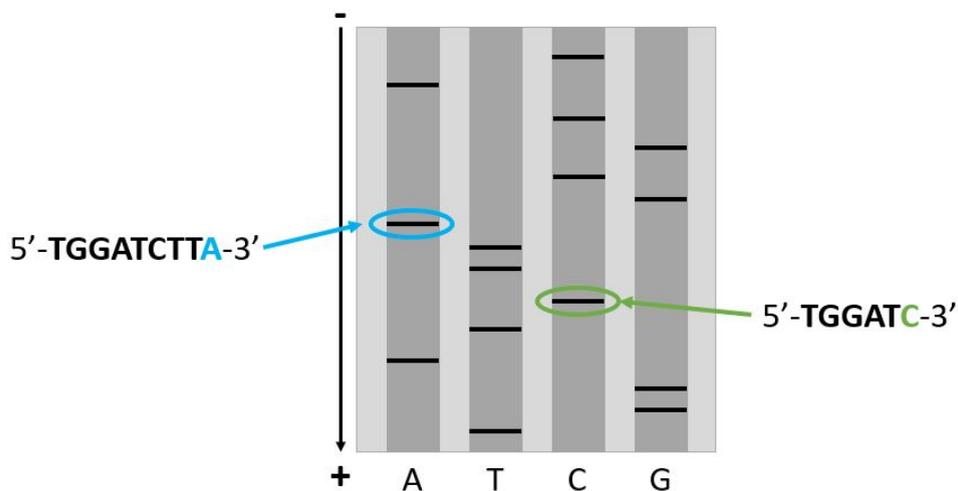
- l'ADN simple brin que l'on veut séquencer
- une amorce
- des dNTP
- un seul type de ddNTP

D. **FAUX**, la polymérisation est réalisée par une **ADN polymérase** : on synthétise un fragment d'ADN et non d'ARN.

E. **FAUX**, une fois que la polymérisation des différents fragments d'ADN est terminée, on fait migrer les mélanges sur un **gel d'électrophorèse**. Les fragments **les plus petits** sont ceux qui vont migrer **le plus loin** : on va donc lire la séquence **de bas en haut** (du fragment le plus petit vers le plus grand) et non de haut en bas. La séquence obtenue suite à la polymérisation est donc la suivante : **5'-TGGATCTTAGCGCAC-3'**.

Cela signifie que la séquence du brin matrice est : **5'-GTGCGCTAAGATCCA-3'**, car les fragments ont été polymérisés par complémentarité de base.

Si on regarde la séquence de certains fragments ci-dessous, on peut voir que le dernier nucléotide est un ddNTP qui bloque la polymérisation. En lisant le dernier nucléotide de chaque fragment on peut donc reconstruire toute la séquence.



**QCM 19 : AE**

A. **VRAI**, le vecteur ou plasmide contient 3 sites importants :

- Le **multisite de clonage** : il contient des sites de coupures pour les enzymes de restrictions.

- Une **origine de répllication** : le plasmide se multiplie indépendamment du chromosome bactérien.
  - Un **gène de résistance à un antibiotique (ampicilline par exemple)** : il permet de sélectionner les bactéries devenues résistantes à l'antibiotique après insertion du plasmide.
- B. **FAUX**, le vecteur possède sa propre origine de répllication. Il se réplique donc de manière **autonome et indépendamment** du chromosome bactérien.
- C. **FAUX**, la technique utilisée pour manipuler les vecteurs eucaryotes est **chère** et **difficile à mettre en œuvre**.
- Rappel : les vecteurs procaryotes possèdent un faible coût et sont faciles à manipuler.*
- D. **FAUX**, ce sont les vecteurs **eucaryotes** qui sont les plus utilisés dans la synthèse des protéines. En effet, les protéines produites grâce à ces vecteurs sont plus proches des protéines eucaryotes. L'utilisation d'un vecteur **procaryote** ne permet de réaliser que quelques modifications post-traductionnelles ce qui donnera des protéines de moins bonne qualité.
- E. **VRAI**, les **levures** et les **cellules eucaryotes supérieures** correspondent aux hôtes des vecteurs **eucaryotes**. *E.coli* correspond à l'hôte des vecteurs **procaryotes**.

### QCM 20 : BD

- A. **FAUX**, la **technique Footprint ou technique d'empreinte** permet de **visualiser un site de fixation inconnu d'une protéine, in vitro**. En revanche, c'est la **technique Chip** qui permet de vérifier, généralement **in vivo** car plus proche du réel, la fixation d'une protéine dans le noyau. La technique Footprint se déroule en 3 étapes :
1. **Fixation** de la protéine sur un ADN marqué.
  2. **Clivage** aléatoire par des nucléases. Si une protéine est fixée alors la nucléase ne pourra pas cliver la séquence de fixation de la protéine sur l'ADN.
  3. La mise en évidence de ces zones de fixation est permise par **l'électrophorèse**. La zone en question présente une **absence de bandes sur la région fixant la protéine**, en comparaison à une séquence de référence ne fixant pas de protéine.
- B. **VRAI**, cf. item A.
- C. **FAUX**, attention, c'est l'inverse. En effet, le but de la **technique Chip** est de vérifier la fixation des protéines **dans un contexte le plus proche possible du réel, donc in vivo**. Dans le cas d'une étude *in vitro*, les protéines se fixent beaucoup plus facilement sur la séquence de fixation que dans le cadre d'une étude *in vivo*. Dans le cas d'une étude *in vivo* il y a beaucoup plus de sites potentiels de fixation que de sites où la protéine se fixe réellement.. La méthode ChiP permet donc d'obtenir une preuve de la réelle fixation d'une protéine à la chromatine.
- D. **VRAI**, la technique ChiP se déroule en plusieurs étapes :
1. Mise en culture et perméabilisation.
  2. Ajout d'un agent couplant permettant la formation de **liaisons covalentes** (liaisons fortes) entre les **protéines et la chromatine**. Cette étape permet d'assurer le maintien de la fixation de la protéine à la chromatine le temps de l'étude.
  3. Extraction et fractionnement de l'ADN.
  4. **Ajout d'un anticorps spécifique à la protéine cible**.
  5. Précipitation du complexe protéine-ADN-anticorps.
  6. **Destruction des liaisons covalentes et digestion des protéines**.
  7. **Analyse** de la séquence d'ADN.
- E. **FAUX**, la technique de clonage est utilisée afin de mesurer l'activité transcriptionnelle d'un promoteur ou de séquences régulatrices. Mais attention, la mesure de l'activité du promoteur est permise par la quantification des **protéines traduites** et non transcrites. Ainsi, plus l'expression est importante, plus la quantité de protéine produite est importante, et inversement.
- Rappel : on transcrit l'ADN en ARNm, puis on traduit l'ARNm en protéine.*

### QCM 21 : CD

- A. **FAUX**, les enzymes de restriction proviennent des **bactéries**. En effet, ces enzymes sont produites par les bactéries pour se défendre.

- B. **FAUX**, les enzymes de restriction sont des **endonucléases**. C'est-à-dire qu'elles coupent une séquence d'ADN à l'intérieur de celle-ci et non aux extrémités comme le feraient les exonucléases.
- C. **VRAI**, la particularité des enzymes de restriction est qu'elles reconnaissent des **séquences palindromiques**. Ce sont des séquences qui se lisent de manière identique dans le sens 5'→ 3' sur le brin sens et dans le sens 5'→ 3' sur le brin anti-sens.

Exemple:



- D. **VRAI**, le clonage est une technique qui permet d'**amplifier spécifiquement une séquence d'ADN** de manière à la purifier, et d'étudier sa structure et sa fonction. On utilise les enzymes de restriction lors de la préparation du vecteur et de l'ADN à insérer pour permettre une **compatibilité** entre ces deux éléments.
- E. **FAUX**, l'enzyme X coupe le gène quand celui-ci n'est pas muté. En cas de mutation, il y a **disparition du site de restriction** et X n'agit plus.

### **QCM 22 : A**

*Pour répondre à cet exercice, je vous conseille d'abord d'établir le profil génétique de chacun et de répondre aux différents items après.*

**On sait que le gène CHALEUR est coupé par l'enzyme X quand il n'y a pas de mutation car cette enzyme reconnaît et donc coupe la séquence saine 5'-GATC-3'.**

Donc le profil NORMAL (homozygote sain) est → 2 bandes : à 150 pb et 100 pb.

Le profil HÉTÉROZYGOTE est → 3 bandes : à 250 pb, 150 pb et 100 pb.

Le profil HOMOZYGOTE muté est → 1 bande à 250 pb.

**D'autre part, on sait que le gène LOVE est coupé par l'enzyme Y quand il y a la mutation, car cette enzyme reconnaît et donc coupe la séquence mutée 5'-TCGA-3'.**

Donc le profil NORMAL pour ce gène est → 1 bande à 400 pb.

Le profil HÉTÉROZYGOTE est → 3 bandes : à 400 pb, 360 pb et 40 pb.

Le profil HOMOZYGOTE muté est → 2 bandes : à 360 pb et 40 pb.

Commençons par **Eugénie** :

- Sur le gène *CHALEUR*, elle possède **1 bande à 250 pb**. Elle est donc **homozygote mutée** pour le gène *CHALEUR*.
  - Sur le gène *LOVE*, elle possède également **1 bande à 400 pb**. Le gène *LOVE* d'Eugénie est normal.
- Eugénie est atteinte d'UE1cecticisme car elle est homozygote mutée pour le gène *CHALEUR*.

En ce qui concerne **Eheina** :

- Sur le gène *CHALEUR*, elle possède **2 bandes à 150 et 100 pb**. Le gène *CHALEUR* d'Eheina est normal.
  - Sur le gène *LOVE*, elle possède **2 bandes à 360 et 40 pb**. Elle est donc **homozygote mutée** pour le gène *LOVE*.
- Eheina est atteinte d'UE1cecticisme car elle est homozygote mutée pour le gène *LOVE*.

On continue avec **Jacquou** :

- Sur le gène *CHALEUR*, il possède **3 bandes à 250, 150 et 100 pb**. Il est donc **hétérozygote muté** pour le gène *CHALEUR*.
- Sur le gène *LOVE*, il possède **3 bandes à 400, 360 et 40 pb**. Il est **hétérozygote muté** pour le gène *LOVE*.

→ Jacquou n'est pas atteint d'UE1cecticisme car c'est une maladie autosomique récessive. Il faut donc être homozygote muté sur un gène pour être atteint. Jacquou est un homme sain.

Attention : Jacquou n'est **pas un hétérozygote composite**. En effet, l'hétérozygotie composite se caractérise par la présence de **deux mutations sur un même gène** : l'individu est alors malade. Or, ici, *CHALEUR* et *LOVE* sont 2 gènes différents, bien que responsables de la même maladie.

On finit avec **Baptiste**:

- Sur le gène *CHALEUR*, il possède **2 bandes à 150 et 100 pb**. Le gène *CHALEUR* de Baptiste est normal.
  - Sur le gène *LOVE*, il possède **1 bande à 400 pb**. Le gène *LOVE* de Baptiste est normal.
- Baptiste n'est pas atteint d'UE1cecticisme. En effet, il n'est pas atteint des mutations responsables de cette maladie.

- A. **VRAI**, Eugénie est atteinte d'UE1cecticisme car elle est homozygote mutée pour le gène *CHALEUR*.
- B. **FAUX**, Jacquou est un homme sain car il est hétérozygote muté mais pour 2 gènes différents.
- C. **FAUX**, Eheina est homozygote mutée pour le gène *LOVE* et non le gène *CHALEUR*.
- D. **FAUX**, Baptiste est sain pour les 2 mutations étudiées des gènes *CHALEUR* et *LOVE*.
- E. **FAUX**, cf item D.

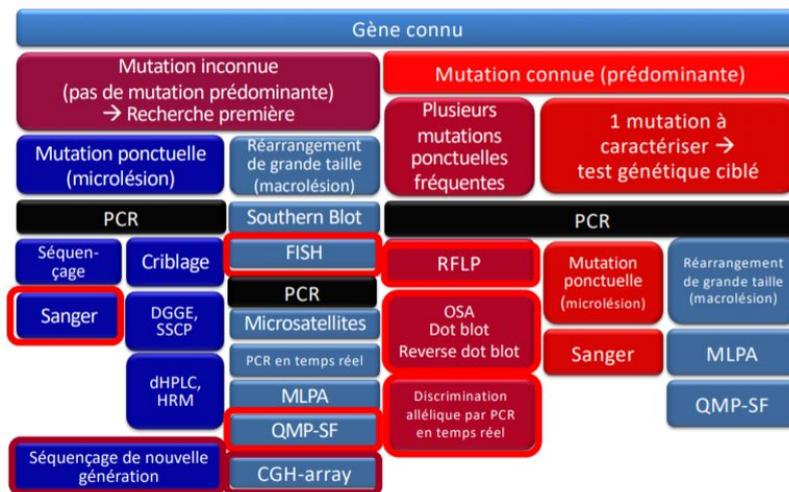
**QCM 23 : CE**

A. **FAUX**, on a ici la définition du Reverse Dot Blot.

Pour rappel :

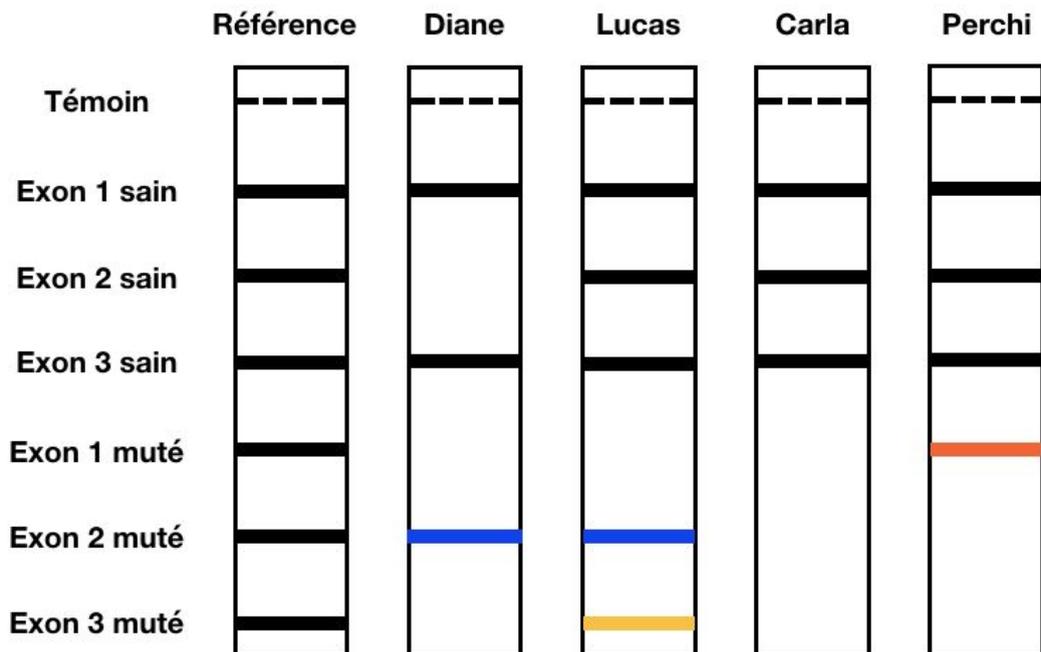
- le **Dot Blot** utilise un transfert d'acides nucléiques en solution sur la membrane. La **cible**, c'est-à-dire l'échantillon à étudier, se trouve sur la **membrane** tandis que la **sonde** (oligonucléotides spécifiques d'allèles = OSA) marquée se trouve en **solution**.
- le **Reverse Dot Blot** est l'inverse du Dot Blot. La **sonde OSA non marquée est fixée sur une membrane** alors que la **cible marquée est en solution** et sera hybridée sur la membrane.

B. **FAUX**, on utilisera cette technique sur un **gène connu** afin de rechercher une **mutation connue (prédominante)**.



- C. **VRAI**, sa mise en œuvre répond à une demande qui est de **rechercher des mutations ponctuelles fréquentes** dans la population : on connaît la mutation, et on cherche à savoir si elle est présente chez le sujet (cf diapositive 6 du pr. Sevenet).
- D. **FAUX**, le Reverse Dot Blot utilise des produits de PCR qui sont **marqués** grâce à des amorces liées à la **biotine**. Cette biotine permettra une révélation grâce à son affinité avec la **streptavidine**, couplée à une **phosphatase alcaline** qui transformera un chromogène incolore en substrat coloré.
- E. **VRAI**, cela permet la mise en évidence de la **mutation drépanocytaire Glu6 Val** au niveau du gène de la **β globine**.

**QCM 24 : BD**



Avant de commencer l'exercice, il vaut mieux déterminer le profil génétique de chaque patient :

Diane	Lucas	Carla	Perchi
<b>Homozygote mutée</b> pour la mutation <b>RICARDO</b> .	<b>Hétérozygote composite</b> pour les mutations <b>RICARDO</b> et <b>TROIS</b> .	<b>Homozygote saine</b> pour les trois exons.	<b>Hétérozygote mutée</b> pour la mutation <b>SOLEIL</b> .
Atteinte du syndrome UEJaune.	Atteint du syndrome UEJaune.	Saine.	Atteinte du syndrome UEJaune.

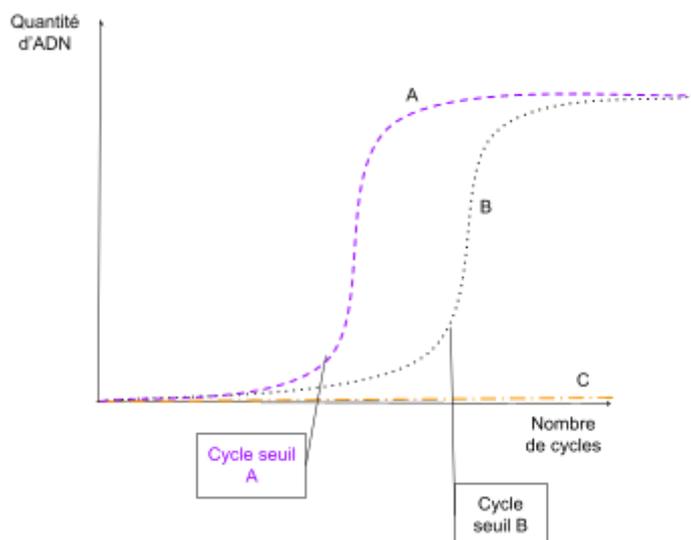
- A. **FAUX**, Diane est dépourvue de l'exon 2 sain. Elle possède donc deux versions de l'exon 2 muté **RICARDO**, elle est **homozygote mutée**. Elle sera donc atteinte du syndrome **UEJaune**.
- B. **VRAI**, en effet hétérozygote pour la mutation **SOLEIL**. Cette mutation ayant un caractère dominant, un seul allèle muté suffit pour que Perchi soit atteinte de la maladie UEJaune.
- C. **FAUX**, on parle d'hétérogénéité intra-locus quand différentes mutations d'un même gène aboutissent à des phénotypes différents. Nos trois mutations aboutissent toutes à la même maladie et donc au même phénotype, on ne peut donc pas dire qu'il y a une hétérogénéité génétique intra-locus.
- D. **VRAI**, un **hétérozygote composite** possède **deux mutations sur le même gène**. Les deux mutations étudiées sont sur le gène UEBleue. Lucas est donc bien **hétérozygote composite**.
- E. **FAUX**, Carla est saine pour les trois mutations étudiées mais **rien ne garantit** qu'elle soit saine pour le syndrome UEJaune. En effet ici on n'étudie que les mutations les plus fréquentes du gène UEBleue qui causent la maladie UEJaune, mais Carla pourrait être atteinte d'une autre mutation non étudiée qui causerait aussi cette maladie.

#### QCM 25 : ACE

- A. **VRAI**, la PCR-RFLP permet de mettre en évidence des **mutations ponctuelles** faisant apparaître ou disparaître un site de coupure pour une enzyme de restriction.
- B. **FAUX**, l'analyse de l'ADN par PCR-RFLP requiert **3** étapes :
1. Amplification de l'ADN à étudier par **PCR**.
  2. **RFLP** : digestion enzymatique à **37°C** par l'enzyme de restriction (coupure de l'ADN).
  3. Analyse sur gel : **électrophorèse**.
- C. **VRAI**, cf. item B.

- D. **FAUX**, le diagnostic de la mucoviscidose peut notamment se faire notamment grâce au reverse dot blot mais pas grâce à la PCR-RFLP.
- E. **VRAI**, l'hémochromatose de type 1 est une maladie due notamment à une mutation faisant apparaître un site de coupure pour l'enzyme de restriction SnaB1, que l'on peut analyser par PCR-RFLP.

### QCM 26 : ABCD



- A. **VRAI**, la PCR en temps réel (= PCR quantitative) est une PCR classique à laquelle on **ajoute un capteur de fluorescence**. À chaque fois qu'une amplification a lieu, il y a **l'émission de fluorophores**. En détectant la quantité de fluorescence émise, on peut donc savoir si l'amplification est importante ou pas. On **ne peut pas donner de valeur précise** à l'amplification, c'est donc une **méthode relative** (et non pas quantitative absolue) qui nécessite la **comparaison de plusieurs échantillons**.

*Petit rappel : à la fin d'une PCR quantitative, afin d'obtenir une quantité d'ADN similaire dans la zone de plateau, le nombre de cycles variera en fonction de la quantité initiale d'ADN de chacun des allèles. Plus la quantité d'ADN initiale est faible et plus le nombre de cycles nécessaires pour arriver au plateau sera important. Ce nombre de cycles étant défini par le cycle seuil.*

- B. **VRAI**, voir item A. Cette **variation de l'intensité de fluorescence** est détectée par une caméra.
- C. **VRAI**, le **cycle seuil du patient C est élevé**, tellement élevé que l'amplification des séquences génomiques propres au patient C ne commence pas sur le temps expérimental. On est **en-dessous du seuil de détection** de la fluorescence et la courbe C correspond au bruit de fond, pas à l'amplification.
- D. **VRAI**, le cycle seuil du patient A est en effet plus petit que celui du patient B. **Cette inflexion correspond au cycle seuil** (voir légende sur le schéma).
- E. **FAUX**, le **cycle seuil du patient A est plus petit** que celui du **patient B** (voir item D), ce qui signifie que le **patient A** possède une quantité virale **plus importante** que le **patient B**. Dans cette situation on veut amplifier une quantité virale pour pouvoir **l'étudier et connaître la quantité de virus** dans l'échantillon de base comparé à d'autres échantillons. Si un patient a beaucoup de charge virale, il a une quantité d'ADN viral plus importante (par définition). Il est donc plus rapide de détecter une grosse quantité de matériel génétique qu'une petite.

*Rappel : à chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN double.*

### QCM 27 : BCD

- A. **FAUX**, en effet, la modification génétique des cellules de l'individu peut se faire de manière **ex vivo** (on parle alors d'**autogreffe** de cellules génétiquement modifiées) ou de manière **in vivo** (on introduit le vecteur directement dans l'organisme).

*Définitions pour aider à la compréhension :*

- **Autogreffe** : forme de transplantation où les cellules (ou l'organe) greffées proviennent du malade lui-même.
- **Allogreffe** : transfert de cellules (ou de tissus ou d'organes) entre un donneur et un receveur.

- B. **VRAI**, la thérapie d'augmentation permet d'apporter un gène normal via un vecteur à une cellule. Grâce à cela, la cellule peut de nouveau exprimer la protéine qui était déficiente.
- C. **VRAI**, on utilise cette technique lorsque le produit du gène déficient est **nocif** pour la cellule/l'organisme. On va alors injecter des **ARN interférents double brins** qui vont s'associer sous forme simple brin au **complexe RISC**. Ce complexe va alors interagir avec l'ARNm du gène, le couper et **inhiber son expression** : cela permet d'arrêter la production de ce produit nocif.
- D. **VRAI**, cela correspond à une **correction ciblée de la mutation du gène** : on peut corriger directement la copie du gène muté dans le génome afin de corriger le génome à la base près. Dans cette technique, on utilise la **recombinaison homologue**, avec la méthode **CRISPR-Cas9**.
- E. **FAUX**, la **recombinaison homologue avec apport d'ADN donneur** permet de **corriger un gène**. Dans cette technique, on apporte une séquence d'ADN qui contient la séquence normale afin de la remplacer et donc de corriger le génome.
- Si l'on cherche à **invalider un gène**, il faut réaliser une **jonction des extrémités non homologues** (NHEJ), sans apport d'ADN donneur.

#### **QCM 28 : E**

- A. **FAUX**, les lipoplex et les polyplex sont des vecteurs **non viraux** constitués de **polymères** ou de **lipides**.  
*Nota Bene* : Les vecteurs viraux, comme les vecteurs **rétroviraux** et les vecteurs **dérivés de virus à ADN**, sont issus d'un **virus modifié**.
- B. **FAUX**, le **lipoplex** est un **lipide cationique** ou **liposome** formé de l'association d'une **tête polaire cationique** et d'une **queue hydrophobe**. Le **polyplex** est, quant à lui, un **polymère cationique** qui résulte de l'association d'un **polymère** et d'un **acide nucléique**.
- C. **FAUX**, le polyplex est un polymère **cationique**. En effet, les charges positives de ce vecteur permettent son association avec les groupements phosphates chargés négativement de l'ADN, ce qui aboutit à la **condensation de l'ADN**.
- D. **FAUX**, les vecteurs non viraux (**polyplex** et **lipoplex**) possèdent un risque oncogénique **très faible** voire **nul**. Ceci est dû à leur **absence d'intégration au génome**.
- E. **VRAI**, les polyplex et les lipoplex ne s'intègrent pas au génome et possèdent de ce fait une **expression transitoire**.

#### **QCM 29 : BCD**

- A. **FAUX**, les **deux types de vecteurs rétroviraux** sont les **oncorétroviraux** et les **lentivirus**. Les **adénovirus** et les **AAV** sont des vecteurs dérivés de virus à **ADN**.
- B. **VRAI**, l'intégration des **vecteurs (rétro)viraux** dans le génome permet une expression **à long terme**.
- C. **VRAI**, les vecteurs lentiviraux (dont certains dérivent du VIH) ne nécessitent **pas de division cellulaire** car ils peuvent réaliser la transduction de **cellules quiescentes**. Cela limite le risque oncogénique.
- D. **VRAI**, les vecteurs **oncorétroviraux** sont trop gros pour passer dans le noyau et nécessitent par conséquent **une division cellulaire**. Cela induit un **risque oncogénique important**, notamment lors de l'intégration du vecteur proche du site d'initiation de la transcription d'un gène de régulation de la division cellulaire.
- E. **FAUX**, les lentivirus présentent moins de risques oncogéniques que les vecteurs oncorétroviraux mais **le risque zéro n'existe pas**.

#### **QCM 30 : ACE**

- A. **VRAI**, certains enfants souffrent du syndrome d'immunodéficience combinée sévère ("enfants bulles"). Si on trouve des **donneurs compatibles HLA**, le traitement principal est la **greffe de moelle osseuse**. En absence de donneur compatible, la thérapie génique devient le seul traitement possible, ayant pour but une **correction des cellules souches hématopoïétiques**.
- B. **FAUX**, dans le protocole de déficit immunitaire SCID, la moelle osseuse des patients est dans un premier temps recueillie. Les cellules souches sont alors purifiées grâce à un **anticorps reconnaissant l'antigène de surface spécifique des cellules souches**. Les cellules sont ensuite corrigées par un **rétrovirus** et réinjectées dans l'organisme par voie intraveineuse.

- C. **VRAI**, on utilise un **vecteur rétroviral** qui possède l'ADNc de la chaîne déficitaire dans l'expression des récepteurs d'interleukines. La prolifération des lymphocytes est alors restaurée. Ce protocole a néanmoins induit des effets secondaires graves comme des leucémies, avec des risques oncogéniques liés au vecteur oncorétroviral de 1<sup>ère</sup> génération utilisé.
- D. **FAUX**, le traitement de l'adrénoleucodystrophie (atteinte de la myéline du système nerveux central) utilise des **vecteurs lentiviraux**.
- E. **VRAI**, il existe plusieurs traitements possibles en cancérologie :
- inhibition d'oncogènes
  - immunothérapie active
  - **transfert de gène-suicide**
  - virus oncolytiques

### QCM 31 : CD

- A. **FAUX**, le génome humain possède environ 20 000 gènes codants et 22 000 gènes non codants.
- B. **FAUX**, le projet génome humain a pour but de cartographier le génome humain en entier.
- C. **VRAI**, la **génétique constitutionnelle** correspond aux anomalies constitutives. Ces anomalies sont présentes dans l'**ensemble des cellules**. Ce sont des maladies transmissibles, donc hérissables. **Les maladies transmissibles des parents aux enfants sont dites congénitales**, elles sont généralement considérées comme des maladies rares (moins de 1/2 000 cas = prévalence). Les maladies congénitales sont forcément transmises par le biais des parents. En revanche, les parents d'un enfant atteint d'une maladie congénitale peuvent être des sujets sains dans le cas où l'anomalie touche uniquement les gamètes des parents (mutation *de novo*), entraînant la formation d'un pool muté de gamètes, on parle de **mosaïcisme germinale**.
- D. **VRAI**, cf. item C.
- E. **FAUX**, les **anomalies somatiques** touchent, comme son nom l'indique, les cellules somatiques. Les gamètes ne sont pas compris dans les cellules mutées : il ne peut donc pas y avoir de transmission des parents aux enfants. Les anomalies somatiques ne sont ainsi **JAMAIS hérissables**. Elles sont restreintes aux cellules malades, on parle de clone tumoral. Ce sont les mutations somatiques qui entraînent l'apparition de cancers.

### QCM 32 : BCD

- A. **FAUX**, le CGH permet de mesurer le **nombre de copies** d'un gène et de détecter les anomalies chromosomiques **déséquilibrées** (perte ou gain de matériel chromosomique). Mais il ne permet ni de détecter des anomalies chromosomiques équilibrées ni de calculer le nombre de base d'un gène.
- B. **VRAI**, cf. item A.
- C. **VRAI**, dans la technique CGH, des **sondes** sont immobilisées sur une **lame** : ce sont des **spots**. Chaque spot correspond à une **localisation chromosomique : un locus**.
- D. **VRAI**, l'**ADN à étudier** est marqué en **rouge** par la désoxyribocytosine-Cya5 (= **cyanine 5**), alors que l'**ADN de référence** est marqué par la désoxyribocytosine-Cya3 (= **cyanine 3**) en **vert**. On place ces ADN colorés sur la lame, ils se lient au spot s'ils correspondent au locus. Ainsi si on obtient :
- **Un signal VERT** : il y a une **perte de matériel génétique**, il y a moins d'ADN à étudier, il y a donc une **majorité d'ADN de référence** (verte). On a alors un signal vert car c'est la couleur prédominante.
  - **Un signal ROUGE** : il y a un **gain de matériel génétique**, on observe plus de fluorescence rouge que verte.
  - **Un signal JAUNE** : il n'y a **ni perte ni gain de matériel génétique**. Les deux ADN sont présents en même quantité, donc on a autant de signal rouge que de signal vert, ce qui donne du jaune.
- Petite info bonus : en physique, le rouge et le vert donnent du jaune.*
- E. **FAUX**, cette étude utilise des dCTP (désoxyribocytosine triphosphate) marqués par des fluorophores.

### QCM 33 : B

- A. **FAUX**, les **biopuces d'expression étudient le produit d'expression d'un gène** : l'ARN. Un gène est une séquence d'ADN qui n'est pas active en tant que telle. **Pour qu'un gène s'exprime et soit fonctionnel, il**

**faut qu'il soit transcrit en ARN (et parfois traduit en protéine).** C'est donc ce produit d'expression que l'on va étudier dans les biopuces d'expression (sous forme d'ADN complémentaire).

B. **VRAI**, Cf. item A.

C. **FAUX**, l'ARN est une molécule très fragile, très compliquée à étudier. Lorsqu'on étudie de l'ARN, on passe par une étape de **rétrotranscription** : on copie l'ARN sous forme d'ADNc grâce à une **rétrotranscriptase ADN polymérase ARN dépendante**. Cela permet de conserver la séquence d'ARN, mais sous forme d'une molécule d'ADNc (qui est une forme moins réactive et bien plus stable que l'ARN). **L'ADN formé grâce à la rétrotranscriptase est appelé ADN complémentaire (ADNc).**

D. **FAUX**, dans les biopuces, il y a **toujours** besoin de définir une référence !! Dans les **biopuces à ADN, c'est facile**, tous les individus possèdent 2 copies d'ADN (copie paternelle et copie maternelle). Dans **l'étude des transcrits**, c'est **bien plus compliqué** parce que la quantité de transcrit dépend de beaucoup de paramètres, et il y a des variations de concentrations importantes qui ne sont pas toujours pathologiques. Par exemple, le transcrit de l'insuline est présent en très grande quantité en période post-prandiale, mais est presque absent lors d'un jeûne.

E. **FAUX**, la **CGH array** utilise une **biopuce à ADN** : on hybride de l'ADN dans les spots.

### QCM 34 : BE

A. **FAUX**, le NGS permet de **séquencer simultanément plusieurs millions de molécules d'ADN**. Ainsi, cette méthode n'est pas adaptée pour séquencer un petit nombre de nucléotides, on utilisera plutôt le **séquençage de Sanger**.

B. **VRAI**, la **phase expérimentale** comprend la préparation de la **bibliothèque**, l'**amplification clonale** et le **séquençage**. La **phase informative** correspond à l'analyse **primaire** et **secondaire**. Et enfin, la **phase d'interprétation des résultats** ou analyse **tertiaire** qui a une visée **diagnostic** ou de **recherche**.

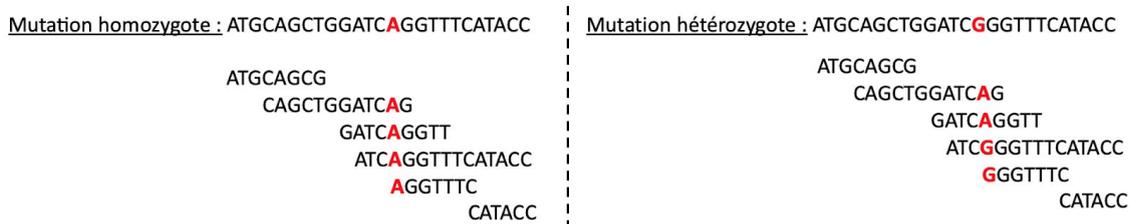
C. **FAUX**, la couverture correspond au **nombre de gènes séquencés**, à l'étendue ou la dispersion de la séquence.

*Rappel* : c'est la profondeur qui correspond au nombre de fois qu'une base est séquencée à un endroit donné.

D. **FAUX**, grâce à la profondeur, on peut différencier une mutation hétérozygote d'une mutation homozygote lors de l'analyse secondaire :

- Mutation hétérozygote : la **moitié** des lectures comprend la variation.
- Mutation homozygote : **toutes** les lectures possèdent la variation.

Séquence normale : ATGCAGCTGGATC**G**GGTTTCATACC



E. **VRAI**, la capacité correspond à : **nombre d'échantillons x couverture x profondeur**. On fait varier les paramètres selon ce qu'on recherche, par exemple, plus on veut de profondeur moins le nombre d'échantillons doit être important.

### QCM 35 : ABD

A. **VRAI**, en effet, chaque nucléotide incorporé induit l'éjection d'un proton. Cette éjection va s'accompagner d'une **variation de pH** qui diffère en fonction du nombre de nucléotides ajoutés.

B. **VRAI**, pour trouver le nucléotide ajouté lors du séquençage, on regarde alors la variation du pH combiné au fluorochrome porté par le nucléotide. Ainsi le couplage détection des protons/fluorochrome permet une détection **qualitative** (le type de base en fonction de la couleur du fluorochrome) et du **nombre de bases** (= le nombre de protons détectés). Par exemple si on a du rouge et deux protons détectés, cela signifie que l'on a incorporé 2 thymines.

- C. **FAUX**, les **billes** sont utilisées pour le séquençage par **Ion Torrent** ! Les amorces de séquençage y sont en effet liées. Dans la **technique Illumina**, les fragments sont **attachés de manière covalente** à la **lame de verre**.
- D. **VRAI**, en effet chaque nucléotide incorporé contient un **groupement bloquant**. Cela permet l'action d'un **laser** qui excite le nucléotide, qui va alors **émettre une fluorescence** qui lui est propre, ce qui permet sa détection. Le groupement bloquant est ensuite enlevé, et la synthèse peut reprendre.
- E. **FAUX**, comme **chaque type de nucléotide** (A, T, C ou G) **émet une fluorescence qui lui est propre**, alors on peut ajouter tous types de nucléotides au cours d'un seul cycle par synthèse Illumina.

#### **QCM 36 : AD**

- A. **VRAI**, les métabanques de données sont **Entrez NCBI**, **Genecards** et **UCSC Genome Browser**. Elles permettent de stocker l'information et elles répertorient l'ensemble des informations au niveau génétique.
- B. **FAUX**, **UCSC Genome Browser** se situe à l'Université de Californie, à Stanford, aux Etats-Unis.
- C. **FAUX**, PubMed classe les publications dans l'ordre **décroissant** de date de sortie, c'est-à-dire que la publication la plus **récente** est affichée **en premier**.
- D. **VRAI**, à noter que *Genatlas* se situe en France.
- E. **FAUX**, pour déterminer la **séquence de référence** de la protéine on retourne sur **Genecards**.

#### **QCM 37 : BDE**

- A. **VRAI**, le **tri de la masse d'information** correspond au **"dry lab"** ou **biologie sèche**.
- B. **VRAI**, ce site qui appartient au **NCBI** fournit **la séquence ADN de référence** du gène d'intérêt.
- C. **FAUX**, c'est le site **Primer 3** qui permet de déterminer **la séquence des amorces PCR**. Le site **Blast** permet quant à lui de vérifier que les séquences créées par Primer 3 sont bien spécifiques de la séquence à amplifier.
- E. **VRAI**, *Orphanet* est un site français qui concerne les maladies rares et génétiques. Ce portail permet :
- De trouver une **consultation en Europe**.
  - De trouver des **informations sur la pathologie**.
- Ce site ne fournit **pas d'information sur le gène** en première intention.