

**UE1B – Biomolécules, génome,  
bioénergétique, métabolisme**

**Annales Classées Corrigées**

**Techniques de génie génétique**

**SUJET**

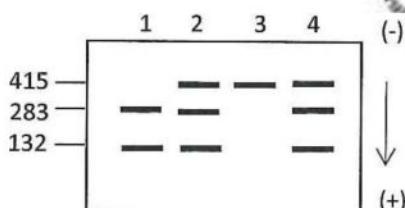
**2019****QCM 24 : A propos des facteurs de transcription**

- A : Ils sont de nature protéique.  
B : Ils reconnaissent des séquences nucléotidiques spécifiques.  
C : Le motif de reconnaissance des séquences nucléotidiques peut être analysé par la technique du « footprint »  
D : Certains présentent des motifs d'interaction ARN-protéine de type « doigt de zinc ».  
E : Ils conditionnent la spécificité de l'expression génique dans les différents tissus.

**2018****QCM 34 à 40**

L'hémochromatose héréditaire est la maladie autosomique récessive la plus fréquente de l'adulte. Elle provoque une surcharge en fer hépatique qui devient généralisée en l'absence de traitement. La forme la plus fréquente est due à une mutation faux-sens du gène *HFE1*, la mutation p.Cys282Tyr (substitution d'une cystéine par une tyrosine au codon 282). La mutation située dans le 4ème exon du gène *HFE1*, fait apparaître un site de coupure pour l'enzyme SnaB1 (site de reconnaissance 5'-TACGTA-3') : si l'exon est amplifié par PCR en un fragment de 415 pb, il est clivé en 2 fragments de 283 et 132 pb quand le génotype est homozygote muté.

Quatre patients présentant une surcharge en fer hépatique sont analysés par PCR et digestion SnaB1 : les profils de digestion sont présentés ci-dessous. On considère que les patients n'ont pas de délétion du gène *HFE1*. Les sujets hétérozygotes pour la mutation ne développent pas de surcharge en fer.

**QCM 34 Concernant la technique d'analyse : l'enzyme de restriction SnaB1**

- A - est une exonucléase  
B - reconnaît une séquence palindromique  
C - clive l'ARNm muté au codon 282  
D - peut-être utilisée dans la technique de clonage moléculaire  
E - est utilisée dans la technique HRM (courbes de fusion)

**QCM 36 Concernant les techniques utilisables pour analyser cette mutation fréquente**

- A - La PCR en temps réel permet en une réaction l'amplification et la détection des produits amplifiés
- B - La technique des empreintes ADN (ou *footprint*) permettra de distinguer les 3 génotypes possibles à cette position
- C - Une technique de PCR quantitative est indispensable pour identifier la mutation
- D - La technique de séquençage selon Sanger identifiera la substitution nucléotidique correspondant au profil du patient 2
- E - Au niveau du profil de séquence Sanger du patient 2, deux pics se chevaucheront à la même position pour cette mutation

**QCM 39 Clonage**

**Chez un patient atteint d'hémochromatose de cette série, l'analyse génétique a identifié une mutation du gène *RTF2* qui n'a jamais été observée auparavant. Pour analyser l'effet de cette mutation sur le métabolisme du fer, il est nécessaire de produire la protéine *RTF2* mutée. La méthode de clonage est utilisée pour introduire l'ADNc *RTF2* (versions normale ou mutée) dans un plasmide capable de produire la protéine codée par le gène *RTF2* muté**

- A - Les ADNc à cloner peuvent être obtenus par RT-PCR et insérés dans le plasmide d'expression grâce à l'action de la ligase
- B - La position des ADNc (orientation 5'- 3') est indifférente dans le plasmide
- C - Le clonage comporte une étape de transformation
- D - La sélection des plasmides recombinants ayant incorporé l'ADNc *RTF2* est permise par l'utilisation d'antibiotiques
- E - La protéine *RTF2* normale ou mutée sera traduite grâce à l'utilisation d'endonucléases de restriction

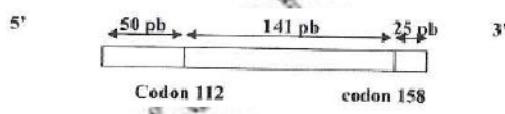
2017

**QCM 35 à 39****Diagnostic génétique dans les dyslipidémies**

Le gène *APOE*, porté par le chromosome 19, code l'apolipoprotéine E impliquée dans le métabolisme du cholestérol et des triglycérides. Des mutations de ce gène sont associées à l'accumulation de lipoprotéines dans le sang qui provoque la formation de dépôts artériels (athérosclérose). Deux positions variantes (mutations faux-sens) du gène *APOE* sont étudiées simultanément par une PCR suivie par une analyse de restriction (technique dite PCR-RFLP). Les séquences des principaux allèles rencontrés sont décrites ci-dessous (la séquence complémentaire n'est pas représentée).

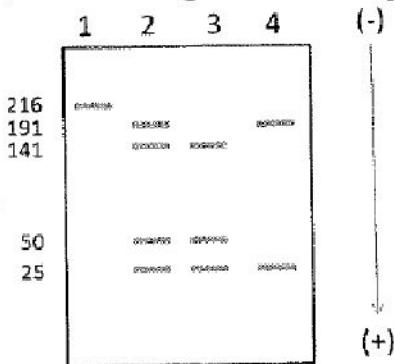
	5'      Codon 112		Codon 158      3'
Allèle E2	... GTG <u>TGC</u> GGC ... Cys		... AAG <u>TGC</u> CTG Cys
Allèle E3	... GTG <u>TGC</u> GGC ... Cys		... AAG <u>CGC</u> CTG Arg
Allèle E4	... GTG <u>CGC</u> GGC ... Arg		... AAG <u>CGC</u> CTG Arg

Pour effectuer l'analyse génétique, l'exon 3 du gène *APOE* est amplifié par PCR en un fragment de 216 pb qui inclut les codons d'intérêt 112 et 158. L'enzyme de restriction utilisée (HhaI) reconnaît la séquence 5'-GCGC-3' et clive le produit de PCR de 216 pb en 3 fragments comme indiqué ci-dessous, si le sujet est homozygote E4/E4 par exemple.

**QCM 35****Les enzymes de restriction utilisées dans la technique RFLP**

- A dérivent de cellules procaryotes
- B sont des ADN polymérases
- C sont capables de reconnaître des séquences d'ADN de type palindromique
- D sont des exonucléases
- E sont utilisables dans la technique de clonage moléculaire

Les produits de digestion sont analysés par électrophorèse en gel d'agarose comme indiqué dans la figure ci-dessous : la piste 1 est un produit de PCR avant digestion, les pistes 2, 3 et 4 correspondent à l'analyse de 3 sujets différents non apparentés. La taille des fragments est donnée en pb, le sens de migration est indiqué par la flèche verticale.

**QCM 36****Concernant l'interprétation des profils**

- A La distance de migration des produits de digestion est proportionnelle à leur masse moléculaire
- B Le profil 2 est celui d'un sujet homozygote E2/E2
- C Le profil 3 est celui d'un sujet homozygote E4/E4
- D Le profil 4 est celui d'un sujet hétérozygote E2/E4
- E Elle pourrait être confirmée par un séquençage selon Sanger

L'étude des publications scientifiques indique que 3 gènes sont impliqués dans la majorité des formes génétiques de dyslipidémies, soit une vingtaine de mutations ponctuelles réparties sur les régions codantes de ces gènes (par exemple l'exon 26 du gène LDLR).

**QCM 37****Concernant les méthodes utilisables pour analyser ces mutations**

- A Le séquençage selon Sanger est possible
- B La technique d'hybridation spécifique d'allèle appelée reverse dot-blot permettra de rechercher en un seul test différentes mutations fréquentes
- C La technique de RT-PCR quantitative est adaptée
- D La technique de PCR en temps réel utilisant des sondes Taqman est adaptée
- E La technique des empreintes ADN (ou Footprinting) est adaptée

**QCM 38****Concernant le séquençage selon Sanger**

- A Son principe repose sur l'incorporation au hasard de didésoxynucléotides
- B Les désoxynucléotides bloquent l'elongation au cours d'une réaction de séquence
- C L'analyse des réactions de séquence se fait par une électrophorèse en gel d'agarose
- D La détection des produits séquencés se fait par une réaction enzymatique
- E La technique utilise le multisite de clonage d'un vecteur d'expression

**2015****QCM 1 à 7**

L'hémochromatose héréditaire est la maladie autosomique récessive la plus fréquente de l'adulte. Elle provoque une surcharge en fer hépatique qui devient généralisée en l'absence de traitement. La forme la plus fréquente est due à une mutation faux-sens du gène HFE1, la mutation p.Cys282Tyr (substitution d'une cystéine par une tyrosine au codon 282). La mutation située dans le 4ème exon du gène HFE1, fait apparaître un site de coupure pour l'enzyme SnaB1 (5'-TACGTA-3') : si l'exon est amplifié par PCR en un fragment de 415 pb, il est clivé en 2 fragments de 283 et 132 pb. Les sujets hétérozygotes pour la mutation ne développent pas de surcharge en fer.

**QCM 1 L'enzyme de restriction SnaB1**

- A est une endonucléase
- B reconnaît une séquence palindromique
- C clive l'ARNm muté au codon 282
- D est utilisée en PCR quantitative
- E est utilisée dans la technique HRM (courbes de fusion)

**QCM 8 Concernant la technique PCR et ses variantes**

- A la PCR multiplex permet d'amplifier plusieurs régions différentes au cours d'une même PCR
- B la PCR en temps réel permet en une seule réaction l'amplification et la détection des produits amplifiés
- C dans la PCR en temps réel, plus la quantité de matrice initiale est élevée plus le cycle seuil Ct est élevé
- D dans la technique Taqman, la quantité de sonde détruite est inversement proportionnelle à la quantité de produit PCR synthétisé
- E la PCR en temps réel permet de quantifier des génomes bactériens ou vitaux

**2014**

**QCM 1 L'abondance des transcrits d'un gène peut être mesurée par la (les) technique (s) de :**

- A Southern-blot
- B RT-PCR quantitative
- C Séquençage nouvelle génération de l'ADN génomique (NGS)
- D Northern-blot
- E Empreinte sur l'ADN (Footprint)

**QCM 3 Concernant la technique de RT-PCR quantitative :**

- A Elle nécessite l'utilisation d'une ADN polymérase ARN dépendante
- B Elle nécessite une enzyme qui polymérisé de l'extrémité 3'OH vers l'extrémité 5' phosphate
- C Elle permet la quantification des ARNm
- D Plus le Ct (cycle seuil) est élevé plus la quantité de matrice à amplifier à l'origine est élevée
- E L'intensité du signal émis par l'agent SYBR green est inversement proportionnelle au nombre de produits double brin formés

**2013**

**QCM 8 Une analyse par la technique de *dot blot* révèle un signal peut spécifique. Pour augmenter la spécificité de l'analyse on peut :**

- A Utiliser des conditions d'hybridation plus stringentes
- B Augmenter la température d'hybridation
- C Augmenter la force ionique du milieu d'hybridation
- D Modifier la séquence de la sonde pour introduire des mésappariements de bases avec la cible
- E Associer une baisse de la température d'hybridation et une augmentation de la force ionique

**2012**

**QCM 1 : Concernant la transcriptase inverse**

- A – Il s'agit d'une ARN polymérase ADN dépendante
- B – Elle polymérisé de l'extrémité 3'OH vers l'extrémité 5' phosphate
- C – Elle transcrit l'ADN en ARN complémentaire
- D – La transcription inverse des ARNm peut s'effectuer à partir d'une amorce polydA
- E – Elle est utilisée dans la technique de RT-PCR quantitative

**QCM 3 : L'abondance des transcrits d'un gène peut être mesurée par la (les) technique(s) de**

- A – PCR quantitative
- B – Northern Blot
- C – Technique d'empreinte sur l'ADN (Footprint)
- D – Retard sur gel (EMSA)
- E – Southern blot

**QCM 4 : Concernant les méthodes d'étude des interactions entre protéines et acides nucléiques**

- A – Dans la technique de retard sur gel la migration électrophorétique de l'ADN nu est retardée par rapport au complexe nucléoprotéique
- B – Une augmentation du retard sur gel peut être mise en évidence par l'utilisation d'un anticorps dirigé contre la protéine fixée sur l'ADN
- C – Dans la technique d'empreinte de protection à la nucléase, les sites de l'ADN où se fixe la protéine sont accessibles à la nucléase
- D – L'immunoprécipitation de la chromatine (ChIP) permet de mettre en évidence les interactions entre des protéines et d'ADN dans le noyau de la cellule
- E – Dans la technique ChIP, un agent couplant établit des liaisons covalentes entre des protéines et l'ADN

**QCM 7 : Le séquençage enzymatique par terminaison de chaînes avec incorporation de didesoxynucléotides :**

- A – Correspond au principe de pyroséquençage
- B – Nécessite l'addition de desoxynucléotides de l'extrémité 5'Phosphate vers l'extrémité 3'OH
- C – Nécessite l'utilisation simultanée d'un couple d'amorces encadrant la région à séquencer
- D – Utilise des didesoxynucléotides à une concentration plus élevée que les desoxynucléotides
- E – Est la méthode utilisée pour le séquençage à très haut débit

**QCM 8 : Concernant la technique de PCR temps réel**

- A – Plus le Ct (cycle seuil) est élevé, plus la quantité de matrice à amplifier à l'origine est faible
- B – Lorsque l'on utilise l'agent SYBR green, l'intensité du signal est proportionnelle au nombre de produits double brins formés
- C – Dans la technique Taqman on ajoute une sonde complémentaire à la partie centrale de la région à amplifier comportant à la fois un fluorophore et un quencher
- D – Dans la technique Taqman une destruction de la sonde centrale au cours de l'elongation se traduit par une disparition de l'émission de fluorescence
- E – Associée à une étape préliminaire d'ARN polymérase, elle permet une quantification des ARNm

**2011****QCM 1**

La plupart des techniques de biologie moléculaire reposent sur le principe de la complémentarité des bases de l'ADN. L'hybridation d'une sonde sur sa cible sera d'autant plus efficace :

- A : que sa longueur est élevée
- B : que sa composition en G+C est riche
- C : que la force ionique (salinité) du milieu est basse
- D : que la température du milieu est plus élevée que la température de fusion Tm
- E : que les mésappariements sont rares

**QCM 2**

En génie génétique la transcriptase inverse

- A : est utilisée dans la technique de RT-PCR
- B : est d'origine rétrovirale
- C : permet l'obtention d'ARN complémentaire
- D : permet de rétro-transcrire les ARNm grâce à une amorce poly(A)
- E : a comme matrice l'ADN

**QCM 3**

Concernant la technique de séquençage enzymatique :

- A : L'ADN à séquencer doit être sous forme simple brin pour l'action de la polymérase
- B : elle nécessite l'utilisation de désoxyribonucléotides en faible proportion par rapport aux didesoxynucléotides
- C : elle permet de distinguer une mutation à l'état hétérozygote d'une mutation à l'état homozygote
- D : L'ADN polymérase allonge la chaîne synthétisée de l'extrémité 3'OH vers l'extrémité 5'P
- E : L'incorporation de désoxyribonucléotides bloque l'elongation de l'ADN

**QCM 4**

Les enzymes de restriction :

- A : dérivent de cellules procaryotes
- B : sont utilisées dans la technique de clonage moléculaire
- C : sont des exonucléases
- D : sont utilisées dans la technique de Southern blot
- E : sont capables de reconnaître des séquences d'ADN de type palindromiques

**QCM 6**

Concernant la technique de PCR

- A : La limite supérieure d'amplification est de 10 mégabases
- B : Elle comporte des cycles de 3 étapes : dénaturation, hybridation des amores et élongation
- C : Elle présente des risques de faux positifs
- D : Dans la PCR en temps réel, on appelle CT le nombre de cycles pour lequel l'intensité de fluorescence devient détectable
- E : Dans la PCR en temps réel, plus la quantité de matrice à quantifier est élevée plus le CT est élevé

**2010**

**QCM 1**

**A propos de la technique de séquençage automatique**

- A** La séparation des fragments d'ADN néosynthétisés se fait par électrophorèse
- B** Le milieu réactionnel contient des didésoxynucléotides en forte proportion ( $> 50\%$  par rapport aux désoxynucléotides correspondants)
- C** Les didésoxynucléotides bloquent l'extension du brin d'ADN dans lesquels ils sont incorporés
- D** Cette technique de séquençage nécessite une amorce synthétique et une polymérase
- E** Chaque fragment d'ADN néosynthétisé est marqué à son extrémité 3' par un didésoxynucléotide fluorescent

**QCM 2**

**La température de fusion ( $T_m$ ) d'une molécule d'ADN**

- A** est la température pour laquelle une molécule d'ADN est à 50% sous forme simple brin
- B** est d'autant plus élevée que la molécule d'ADN est riche en bases A et T
- C** est d'autant plus élevée que la molécule d'ADN est longue
- D** est mise en évidence par l'augmentation d'absorbance à 260 nm de la molécule d'ADN en solution placée dans une cuve et soumise à un chauffage progressif
- E** diminue lorsque la concentration en sels de la solution d'hybridation augmente