



Année Universitaire 2021 – 2022

Spé Maieutique

Épreuve terminale

Correction détaillée

**Lucie FAGOT
Fany BATAILLON**

Correction rapide

<u>Questions</u>	<u>Réponses</u>
1	CDE
2	AD
3	AC
4	AC
5	ACE
6	ABE

Question 1: 2 points

Suite à l'identification d'un cancer médullaire de la thyroïde chez une femme de 45 ans et l'identification d'une mutation germinale c.2753T>C p.M918T dans l'exon 11 du gène *RET*, vous réalisez une étude familiale chez ses enfants.

Parmi les analyses suivantes, laquelle(lesquelles) proposeriez-vous ?

- A. Un séquençage d'exome.
- B. Un séquençage de la totalité du gène *RET*.
- C. Un séquençage de l'exon 11 du gène *RET*.
- D. Une PCR avec des sondes Taqman spécifiques de la mutation.
- E. Un snapshot avec une amorce se terminant en c.2752.

Dans ce type d'exercice, il est important de déterminer premièrement le type de mutation. Ici, la mutation est un SNV (variation d'une base). Deuxièmement, il faut voir si on sait ou non la localisation de la mutation et à quelle précision (gène ? exon ? base ?). Enfin, selon cette précision on sélectionne les techniques qui permettraient à la fois de détecter la présence ou non de la mutation mais aussi qui seraient réalisables en pratique (par exemple on ne va pas réaliser un séquençage du gène entier si on sait que la mutation est située sur telle base, peu d'intérêt...). Dans cet exercice, on connaît la base (donc très précis) sur laquelle est localisée la mutation : on se dirigera donc vers des méthodes précises.

A FAUX L'énoncé nous indique dans quel exon la mutation est présente : il s'agit de l'exon 11. Ce n'est donc pas utile de séquencer l'ensemble de l'exome.

B FAUX De même que pour la question précédente : comme ici on a déjà des précisions sur le l'exome et même la base où se situe la mutation, faire le séquençage du gène entier ne fera pas partie des solutions à proposer à un patient.

C VRAI C'est en effet une possibilité. On connaît l'exon donc réaliser son séquençage nous permettra de localiser ou non la mutation.

D VRAI Dans notre exercice, on sait où se situe la mutation, on sait ce que l'on cherche. Rappel : C'est une méthode qui allie la PCR avec une sonde spécifique fluorescente (Taqman). On réalise une PCR de la région d'intérêt, on ajoute une sonde spécifique de la séquence mutée et une sonde reconnaissant la séquence sauvage ; on regarde ensuite la fluorescence qui nous indique s'il y a une mutation (dans ce cas pas de lumière) ou non (lumière/fluorescence).

E VRAI Le snapshot est aussi une méthode spécifique qui permet d'étudier une mutation lorsque l'on sait où elle se trouve dans le génome. Rappel : c'est une PCR multiplexe utilisant le principe de l'extension de base. L'amorce se fixe à l'ADN sur le nucléotide précédant la position interrogée (donc bien en c.2752 → 1 avant la position de notre mutation d'origine c.2753). L'extension simple-base a lieu puis on lit la fluorescence (une couleur pour une base).

Question 2 :

En cas de trisomie 21, la distinction entre les différentes formes cytogénétique de trisomie (libre ou par translocation) est possible par l'emploi :

- A. du caryotype

- B. de la CGH-array
- C. de la FISH sur noyaux interphasiques
- D. de la FISH sur métaphases
- E. du séquençage à haut débit

Dans ce type de question, il est important de déterminer à quelle échelle vous êtes pour savoir quelle méthode sera adaptée. La trisomie 21 est une anomalie du nombre de chromosomes dans laquelle on a un chromosome 21 excédentaire. Il s'agit ici de savoir quelle forme de trisomie il s'agit (libre ou par translocation). On a donc besoin d'une vue globale du chromosome. En connaissant les échelles d'étude de chaque méthode, on peut en déduire les plus appropriées.

A VRAI Le caryotype permet d'identifier les anomalies de nombre de chromosomes (trisomie, monosomie), les anomalies de structures (translocations, inversions, duplications, délétions) et les pathologies du point de cassure. Il est donc adapté ici.

B FAUX Pour rappel, la CGH-array est une analyse chromosomique sur puce à ADN pour déterminer le caryotype moléculaire de la cellule, basée sur la variation du nombre de copies d'ADN. Elle permet donc de détecter des anomalies du nombre de chromosomes, cependant, elle ignore la mécanique chromosomique, or c'est bien ce que l'on cherche ici.

C FAUX Le type et l'état cellulaire en FISH dépendent de ce que l'on cherche à étudier. Ici, on veut voir si le troisième chromosome 21 est libre ou transloqué, on étudie donc sa structure globale, on a donc besoin de pouvoir l'observer au cours de la métaphase.

D VRAI Cf item C

E FAUX Le séquençage au haut débit ne permet pas une étude de la structure globale d'un chromosome, il fragmente le génome pour étudier avec précision les gènes.

Question 3 :

Considérant une translocation réciproque équilibrée, quelle (s) est (sont) la (les) proposition (s) exacte (s) ?

- A. Elle peut être détectée par l'étude du caryotype
- B. Elle est habituellement responsable d'un phénotype malformatif
- C. Elle présente un risque de déséquilibre dans la descendance
- D. C'est l'échange de matériel entre deux bras d'un même chromosome
- E. Elle n'implique pas de gonosome

A VRAI Le caryotype permet d'identifier les anomalies de nombre de chromosomes (trisomie, monosomie), les anomalies de structures (translocations, inversions, duplications, délétions) et les pathologies du point de cassure.

B FAUX En grande majorité ces anomalies n'ont pas de conséquences phénotypiques lorsqu'elles sont équilibrées car il n'y a pas de perte de matériel génétique

C VRAI Lorsque 2 chromosomes sont remaniés, il peut survenir un déséquilibre lors de la méiose (mauvaises ségrégations) qui va venir créer une anomalie génétique dans la descendance.

D FAUX Les translocations réciproques équilibrées sont des échanges de matériel génétique réciproque entre deux chromosomes distincts sans perte de matériel

génétique. Attention de ne pas confondre translocation et inversion (anomalie équilibrée due à un déplacement de matériel chromosomique au sein d'un même chromosome).

E FAUX Les translocations équilibrées peuvent avoir lieu sur n'importe quel chromosome, dont les gonosomes.

Question 4 :

Chez un enfant 46,XY présentant une variation du développement génital, une duplication du gène DAX-1, qui se trouve sur le chromosome X, a été mise en évidence et est responsable du phénotype de l'enfant. Quelle (s) est (sont) la (les) proposition(s) exacte(s) ?

- A. La détection de cette duplication peut se faire par la méthode MLPA
- B. La duplication a été transmise par le père de l'enfant
- C. La détection de cette duplication peut se faire par technique de séquençage haut débit
- D. La détection de cette duplication peut se faire par technique de Sanger
- E. Pour une prochaine grossesse, on pourra proposer la recherche du sexe fœtal dans le sérum de la mère par la réalisation d'un caryotype.

A VRAI La MLPA est une technique permettant de détecter des délétions ou des duplications d'exons ou de gènes. Cette méthode peut donc permettre de détecter la duplication du gène DAX-1.

B FAUX Il est dit dans l'énoncé que la mutation se trouve sur le chromosome X, or pour un garçon le chromosome X est toujours le chromosome transmis par la mère (et le Y par le père). Donc ici la mutation provient forcément de la mère.

C VRAI Le séquençage haut débit permet le séquençage d'une grande partie du génome. Elle permet la détection de duplications, d'inversions ou de délétions.

D FAUX Le séquençage de Sanger permet de rechercher des mutations ciblées, d'une altération à un endroit précis. Elle ne sera pas adaptée pour rechercher une duplication d'un gène entier.

E FAUX On recherche le sexe de l'enfant par amplification du gène SRY sur le sérum maternel et non par la réalisation d'un caryotype.

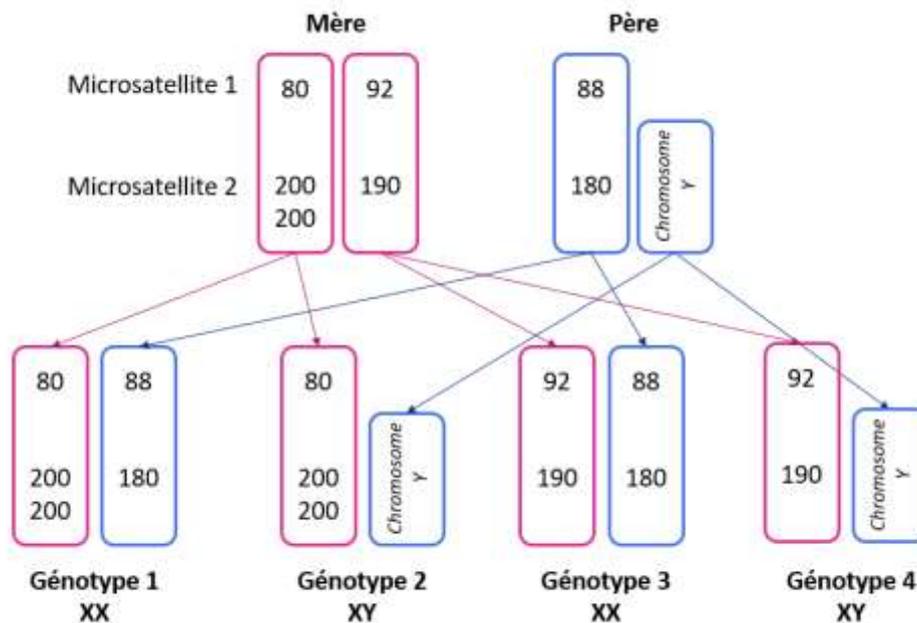
Question 5 :

Un couple ayant déjà eu un enfant 46,XY présentant une variation du développement génital par une duplication du gène DAX-1 qui se trouve sur le chromosome X, réalise un diagnostic prénatal lors d'une nouvelle grossesse. Deux méthodes doivent être utilisées. L'une consiste en l'étude de deux microsatellites (I et II). La taille des microsatellites est différente à chaque locus. L'un des deux est situé dans la zone dupliquée, l'autre proche de la zone dupliquée. Ci-dessous les 4 génotypes possibles si une étude familiale est faite :

	Génotype 1	Génotype 2	Génotype 3	Génotype 4
Microsatellite 1	80/88	80	88/92	92
Microsatellite 2	180/200/200	200/200	180/190	190

- A. La microsatellite 2 est situé dans la zone dupliquée.
- B. Si le fœtus a le génotype 1, il sera atteint.
- C. Si le fœtus a le génotype 2, il sera atteint.
- D. Il n'est pas possible d'obtenir le génotype 4.
- E. Le génotype 3 ne devrait pas être obtenu si le diagnostic prénatal se déroulait dans les conditions optimales.

Pour que tout soit plus clair, je vous ai fait un petit schéma afin que vous visualisiez plus et que vous compreniez la transmission des microsatellites :



Voici quelques précisions : Il s'agit d'une mutation à transmission récessive liée à l'X. C'est donc la mère qui porte la mutation (car sinon le père serait malade). La mutation étant la duplication (200-200). On peut voir que ce microsatellite (200-200) est associé au microsatellite 1 de 80 pb (cf génotype 2).

Parfois dans le tableau, on a un seul haplotype, cela signifie qu'il y a un seul chromosome X (et que l'autre gonosome est un chromosome Y = fœtus masculin).

Les génotypes 2 et 4 seront portés par des fœtus masculins (présence d'un chromosome X et donc d'un haplotype transmis par la mère). Et les génotypes 1 et 3 seront portés par des fœtus féminins (présence de 2 chromosomes X).

A VRAI En effet, le microsatellite 2 est bien situé dans la zone dupliquée. On peut le voir sur le schéma, ou en remarquant que c'est sur le microsatellite 2 qu'on a une duplication (200-200).

B FAUX Le génotype 1 est féminin, il est hétérozygote de la mutation. Or, la transmission de la mutation est récessive liée à l'X donc si le fœtus a le génotype 1, il ne sera pas atteint.

C VRAI Le génotype 2 est masculin et porte la duplication. Il possède un seul chromosome X et celui-ci porte la mutation donc le fœtus portant le génotype 2 sera atteint.

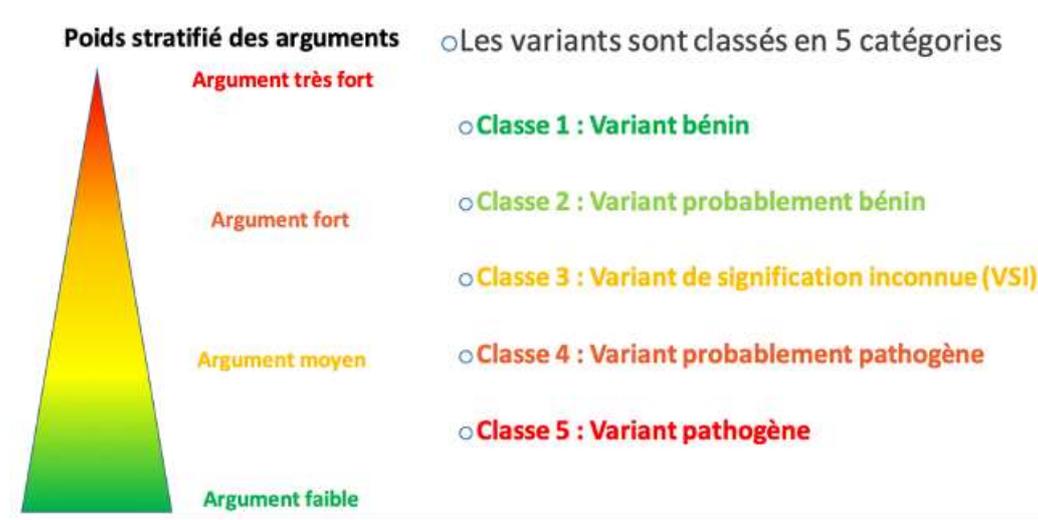
D FAUX C'est tout à fait possible si la mère transmet le chromosome X non porteur de la duplication et que le père transmet le chromosome Y.

E VRAI

Question 6 – Intitulé de la question :

- A. La classe 5 correspond aux variants dits « pathogènes ».
- B. La classe 2 correspond aux variants dits « probablement bénins ».
- C. La classe 3 correspond aux variants dits « difficiles à classer ».
- D. La classe 1 correspond aux variants dits « probablement pathogènes ».
- E. La classification d'un variant dans une des 5 classes pourra être révisée en fonction de l'évolution des connaissances.

Cette question fait référence à la classification en 5 classes des variants. Elle se trouve dans votre cours, sur un schéma que je vous remets juste ici :



A VRAI Ce sont les variants pour lesquels nous avons déterminé la pathogénicité avec certitude.

B VRAI Les arguments tendent vers un variant bénin, mais nous n'avons pas encore de certitude totale.

C FAUX Les variants de classe 3 s'appellent les « variants de signification inconnue », les données actuelles de la science ne nous permettent pas de les classer du côté bénin ou pathogène.

D FAUX Au contraire, les variants de classe 1 sont bénins, tandis que les « probablement pathogènes » sont de classe 4.

E VRAI Tout à fait. La classification des variants repose sur les connaissances actuelles, mais la génétique étant une science encore relativement récente, de nombreuses données restent à acquérir. Les variants de signification incertaine sont des variants pour lesquels nous n'avons pas encore de données suffisantes. Au fil des années, et des séquençages, on développera des données sur ces variants nous permettant de

déterminer leur pathogénicité et donc leur classe. L'idéal serait de réévaluer tous les deux/trois ans les VSI avec les données actualisées.