

Febrero 2017

Guía de inicio rápido del complemento EGFR Pyro[®]

Para su instalación y uso con instrumentos
PyroMark[®] Q24 y con el software PyroMark
Q24 versión 2.0

Acerca del complemento EGFR Pyro

El paquete del complemento EGFR Pyro contiene lo siguiente:

- *Guía de inicio rápido del complemento EGFR Pyro*
- Dos archivos de instalación
- Informe de referencia para la verificación funcional del complemento EGFR Pyro

Nota: El complemento EGFR Pyro debe utilizarse únicamente con los kits EGFR Pyro específicos, indicados para aplicaciones descritas en los manuales correspondientes del kit EGFR Pyro.

Instalación del complemento EGFR Pyro

Importante: El complemento EGFR Pyro debe instalarse en instrumentos **PyroMark Q24 con el software PyroMark Q24 versión 2.0**.

1. Cierre el software PyroMark Q24 2.0 si está abierto.
2. Abra el archivo *.zip de la instalación y extraiga los archivos.
3. Haga doble clic en el archivo setup.exe.
4. Siga las instrucciones en los cuadros de diálogo que aparecen.
5. Inicie el software PyroMark Q24 2.0. A continuación, aparecerán los informes del módulo EGFR Pyro debajo de "AQ Add On Reports/EGFR" (Informes del complemento AQ/EGFR) en el menú "Reports" (Informes) en modo AQ.
6. Verifique el funcionamiento del complemento (consulte "Verificación del funcionamiento del complemento EGFR Pyro" más abajo).

Verificación del funcionamiento del complemento EGFR Pyro

Importante: La verificación deberá llevarse a cabo cada vez que se instale nuevo software o se actualice en el ordenador.

En los pasos siguientes se describe cómo verificar que el software funciona correctamente y no se ha visto afectado por los cambios realizados en el ordenador.

1. Abra la serie analítica "EGFR Example" (ejemplo de EGFR) debajo de "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR" (Accesos directos/Archivos de ejemplo/Análisis PyroMark/EGFR) en el navegador de accesos directos.
2. Realice un análisis "EGFR Exon 19 Deletions" (Delecciones del codón 19 de EGFR) para todos los pocillos, tal como se describe a continuación en "Revisión de una serie analítica PyroMark Q24".
3. Compare los resultados con el informe de referencia. Si los resultados son idénticos, queda confirmado el correcto funcionamiento del complemento EGFR Pyro.

Revisión de una serie analítica PyroMark Q24

En los siguientes pasos se describe el análisis de mutaciones de una serie analítica EGFR finalizada utilizando el complemento EGFR.

1. Introduzca la unidad USB donde haya guardado el archivo de la serie analítica procesado en el puerto USB del ordenador.
2. Copie el archivo de la serie analítica de la unidad USB a la ubicación deseada del ordenador mediante el Explorador de Windows®.
3. Abra el archivo de la serie analítica en el modo AQ del software PyroMark Q24. Para hacerlo, seleccione "Open" (abrir) en el menú "File" (archivo) o haga doble clic en el archivo (📁) desde el navegador de accesos directos.

4. Seleccione las opciones "AQ Add On Reports/EGFR" y "Exon 18 Codon 719" (exón 18 codón 719), "Exon 20 Codon 768" (exón 20 codón 768), "Exon 20 Codon 790" (exón 20 codón 790), "Exon 21 Codons 858 to 861" (exón 21 codones 858 a 861) o "Exon 19 Deletions" (exón 19 deleciones) en el menú "Reports" (Figura 1).

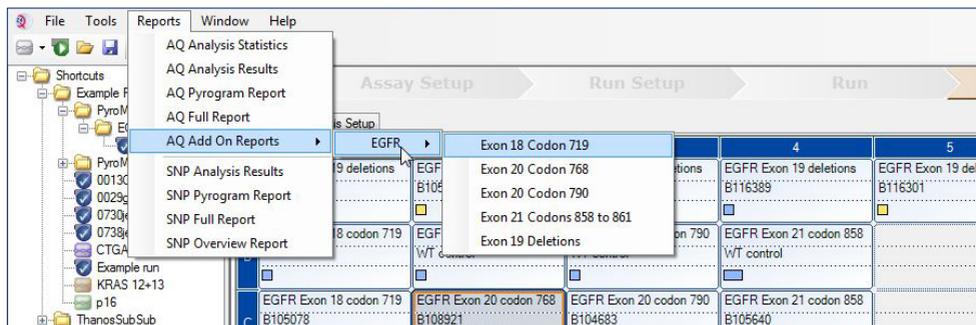


Figura 1. Análisis de mutaciones de una serie analítica EGFR finalizada utilizando el complemento EGFR Pyro.

5. Se analizan automáticamente los pocillos para detectar todas las mutaciones cuyos valores LOD se indican en la tabla 1. Los resultados se presentan en una tabla de resumen (véase el ejemplo en la Figura 2, a continuación), seguidos de los resultados detallados que incluyen los Pyrograms® y la calidad del análisis.

Tabla 1. LOB y LOD determinados para mutaciones específicas con el complemento EGFR Pyro

Mutación	Sustitución de aminoácidos	LOB (unidades de %)	LOD (unidades de %)	COSMIC ID* (V70)
Deleciones del exón 19				
2233del15	K745_E749del	0,6	1,6	26038
2235_2248>AATTC	E746_A750>IP	0,8	1,6	13550
2235_2252>AAT	E746_T751>I	1,1	2,8	13551
2235del15	E746_A750del	0,9	1,8	6223
2236del15	E746_A750del	0,2	1,2	6225
2237_2252>T	E746_T751>V	0,8	2,4	12386
2237_2255>T	E746_S752>V	0,6	1,6	12384
2237del15	E746_T751>A	0,9	1,9	12678
2237del18	E746_S752>A	0,5	1,7	12367
2238_2248>GC	L747_A750>P	0,8	2,5	12422
2238_2252>GCA	L747_T751>Q	0,2	0,6	12419
2238del18	E746_S752>D	0,3	1,1	6220
2239_2248>C	L747_A750>P	1,8	2,4	12382
2239_2251>C	L747_T751>P	0,6	1,7	12383
2239_2258>CA	L747_P753>Q	1,3	3,9	12387
2239del18	L747_S752del	0,6	1,5	6255
2239del9	L747_E749del	2,0	3,7	6218
2240del12	L747_T751>S	0,4	1,5	6210
2240del15	L747_T751del	0,9	1,9	12369
2240del18	L747_P753>S	0,9	1,9	12370
Exón 18 codón 719 (GGC)				
AGC	G719S	0,9	1,5	6252
TGC	G719C	1,0	1,6	6253
GCC	G719A	4,7	9,1	6239
Exón 20 codón 768 (AGC)				
ATC	S768I	2,6	5,0	6241
Exón 20 codón 790 (ACG)				
ATG	T790M	7,0	10,7	6240

Exón 21 codón 858 (CTG)				
CGG	L858R	0,6	2,6 (5,5) [†]	6224
Exón 21 codón 861 (CTG)				
CAG	L861Q	3,2	4,3	6213
CGG	L861R	1,9	4,2	12374

* Del catálogo de mutaciones somáticas del cáncer (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) del Instituto Sanger www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

† Nivel de mutación mínimo de una muestra que da lugar a una medición de frecuencia \geq LOD.

Summary

Well	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	B104683	Mutation	34.0	2236del15	E746_A750del	
A2	B105072	Wildtype				
A3	B116390	Mutation	26.6	2240del18	L747_P753>S	
A4	B116389	Wildtype				
A5	B116301	Potential low level mutation	3.2	2233del15	K745_E749del	⚠
A6	B116392	Mutation	15.4	2235del15	E746_A750del	
A7	WT control	Wildtype				
A8	NTC	Failed Analysis				⚠

⚠ See detailed results for further explanation.

NOTE: For further information about data evaluation please refer to the handbook.

Figura 2. Ejemplo de resumen de resultados a partir de un análisis de complemento EGFR Pyro.

Interpretación de los resultados y detección de mutaciones de bajo nivel

Se recomienda incluir una muestra nativa en cada serie analítica para realizar la comparación y como control para los niveles de referencia.

Importante: Un valor "Check" (Revisar) o "Failed" (Errónea) para la valoración de la calidad puede ser debido a un patrón de picos no esperado. Esta situación podría indicar una mutación no esperada y que, por lo tanto, no se analiza en el informe de complemento. Estas muestras deberían analizarse manualmente con el software PyroMark Q24 y teniendo en

cuenta las mutaciones no previstas. Consulte el manual del kit EGFR Pyro adecuado para obtener más información.

Importante: El pirograma debe compararse siempre con el histograma, que se muestra en los resultados detallados del informe de complemento y puede visualizarse en el software PyroMark Q24 haciendo clic con el botón derecho en la ventana del pirograma. Es necesario revisar el pirograma para detectar la aparición de picos imprevistos. Si los picos medidos no coinciden con la altura de las barras del histograma y dicha diferencia no se debe a mutaciones raras o imprevistas, el resultado no puede considerarse válido para determinar el estado de la mutación. Se recomienda volver a analizar la muestra.

Importante: Las muestras cuyos resultados indican la posible presencia de una mutación de bajo nivel (frecuencia en el intervalo de unidades de LOD a LOD + 3%) se deben analizar por duplicado con una muestra que contenga ADN de control no metilado. En este caso, aparecerá un aviso.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation). 1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos. PROM-8091-003

Pedidos www.qiagen.com/contact | Asistencia técnica support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com