
Februar 2017

EGFR Pyro[®] Plug-in Kurzanleitung

Zur Installation und Verwendung mit PyroMark[®]
Q24 Geräten und der PyroMark Q24 Software
Version 2.0

Über das EGFR Pyro Plug-in

Inhalt des EGFR Pyro Plug-in-Pakets:

- *EGFR Pyro Plug-in Kurzanleitung*
- Zwei Installationsdateien
- Referenzbericht zur Überprüfung der Funktionalität des EGFR Pyro Plug-ins

Hinweis: Das EGFR Pyro Plug-in ist nur für die Verwendung in Kombination mit den jeweiligen EGFR Pyro-Kits für die in den Handbüchern des jeweiligen EGFR Pyro Kits beschriebenen Anwendungen bestimmt.

Installation des EGFR Pyro Plug-ins

Wichtig: Das EGFR Pyro Plug-in muss auf **PyroMark Q24 Geräten mit der PyroMark Q24 Software Version 2.0** installiert werden.

1. Schließen Sie die PyroMark Q24 Software 2.0, falls sie geöffnet ist.
2. Öffnen Sie den *.zip-Installationsordner und entpacken Sie die Dateien.
3. Doppelklicken Sie auf die Datei setup.exe.
4. Folgen Sie den Anweisungen in den angezeigten Dialogfeldern.
5. Starten Sie die PyroMark Q24 Software 2.0. Nun werden im Menü „Reports“ (Berichte) im AQ-Modus unter „AQ Add On Reports/EGFR“ (AQ-Zusatzberichte/EGFR) die EGFR Pyro Plug-in-Berichte geöffnet.
6. Überprüfen Sie die Funktionalität des Plug-ins (siehe „Überprüfung der Funktionalität des EGFR Pyro Plug-ins“ unten).

Überprüfung der Funktionalität des EGFR Pyro Plug-ins

Wichtig: Die Überprüfung sollte bei jeder Neuinstallation und bei jedem Upgrade der Software auf dem Computer durchgeführt werden.

Die folgenden Schritte beschreiben, wie überprüft werden kann, dass die Software einwandfrei arbeitet und nicht durch Veränderungen auf dem Computer beeinträchtigt ist.

1. Öffnen Sie in der Navigationsansicht unter „Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR“ (Shortcuts/Beispielsdateien/PyroMark Läufe/EGFR) den „EGFR Example“ (EGFR Beispiel)-Lauf.
2. Führen Sie für alle Vertiefungen entsprechen der unten in „Analyse eines PyroMark Q24-Laufs“ angegebenen Beschreibung eine Analyse auf „EGFR Exon 19 Deletions“ (Deletionen in EGFR Exon 19) durch.
3. Vergleichen Sie die Ergebnisse mit dem Referenzbericht. Sind die Ergebnisse identisch, ist die einwandfreie Funktion des EGFR Pyro Plug-ins bestätigt.

Analyse eines PyroMark Q24 Laufs

Die folgenden Schritte beschreiben die Mutationsanalyse eines abgeschlossenen EGFR-Laufs mit dem EGFR Plug-in-Bericht.

1. Stecken Sie den USB-Stick, auf dem die Laufdatei gespeichert ist, in den USB-Anschluss des Computers.
2. Verschieben Sie die Laufdatei über den Windows® Explorer vom USB-Stick zum gewünschten Speicherort auf dem Computer.
3. Öffnen Sie die Laufdatei im AQ-Modus der PyroMark Q24 Software, indem Sie entweder im Menü „File“ (Datei) die Option „Open“ (Öffnen) auswählen oder in der Navigationsansicht auf die Datei doppelklicken (👉).

4. Wählen Sie im Menü „Reports“ „AQ Add On Reports/EGFR“ und „Exon 18 Codon 719“, „Exon 20 Codon 768“, „Exon 20 Codon 790“, „Exon 21 Codons 858 to 861“ (Exon 21, Codons 858 bis 861) oder „Exon 19 Deletions“ (Deletionen in Exon 19) (Abbildung 1).

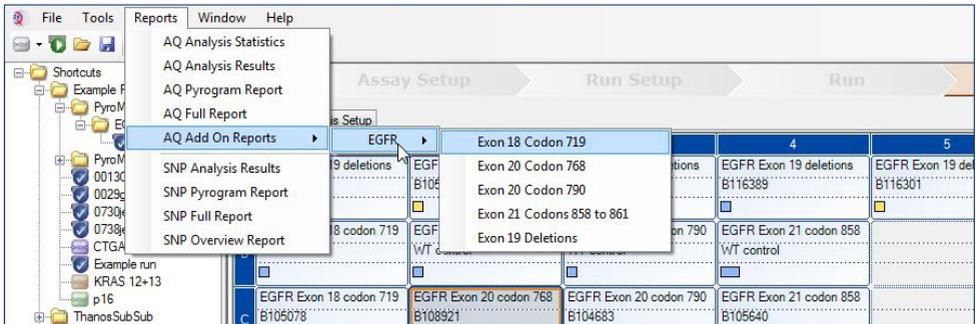


Abbildung 1. Mutationsanalyse eines abgeschlossenen EGFR-Laufs mit dem EGFR Pyro Plug-in.

5. Es werden automatisch die Wells für alle Mutationen analysiert, für die in Tabelle 1 Nachweisgrenzen angegeben sind. Die Ergebnisse werden in einer Übersichtstabelle zusammengefasst (siehe Beispiel in Abbildung 2 unten); im Anschluss folgen die detaillierten Ergebnisse, wie z. B. Pyrogramm[®] und Informationen zur Analysequalität.

Tabelle 1. Mit dem EGFR Pyro Plug-in für bestimmte Mutationen erfasste LOB und LOD

Mutation	Aminosäure- substitution	LOB (Prozenteinheiten)	LOD (Prozenteinheiten)	COSMIC-ID* (V70)
Deletionen in Exon 19				
2233del15	K745_E749del	0,6	1,6	26038
2235_2248>AATC	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
Exon 18 Codon 719 (GGC)				
AGC	G719S	0,9	1,5	6252
TGC	G719C	1,0	1,6	6253
GCC	G719A	4,7	9,1	6239
Exon 20 Codon 768 (AGC)				
ATC	S768I	2,6	5,0	6241
Exon 20 Codon 790 (ACG)				
ATG	T790M	7,0	10,7	6240

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

* Aus dem „Catalogue of Somatic Mutations in Cancer“, der auf der Website des Sanger-Instituts unter www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/ verfügbar ist.

† Niedrigster Mutationsgrad in einer Probe, der eine gemessene Häufigkeit \geq LOD ergibt.

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.

Abbildung 2. Beispielergebnisse aus einer Analyse mit dem EGFR Pyro Plug-in.

Interpretation der Ergebnisse und Nachweis schwacher Mutationen

Wir empfehlen dringend, zu Vergleichszwecken und als Hintergrundkontrolle in jedem Lauf eine Wildtypprobe mitzuführen.

Wichtig: Die Qualitätsbewertung „Check“ (Überprüfen) oder „Failed“ (Fehlgeschlagen) kann durch ein unerwartetes Peakmuster verursacht werden. Dies weist möglicherweise auf eine unerwartete Mutation hin, die bei Verwendung des Plug-in-Berichts nicht analysiert wird. Solche Proben müssen unter Berücksichtigung, dass eventuell unerwartete Mutationen

vorliegen, mit der PyroMark Q24 Software manuell analysiert werden. Einzelheiten sind dem Handbuch des jeweiligen EGFR Pyro Kits zu entnehmen.

Wichtig: Das Pyrogram-Diagramm sollte stets mit dem Histogramm verglichen werden. Dieses ist in den ausführlichen Ergebnissen des Plug-in-Reports gezeigt und kann durch Rechtsklick im Pyrogram-Diagramm-Fenster in der PyroMark Q24 Software angezeigt werden. Das Pyrogram-Diagramm sollte auf unerwartete Peaks geprüft werden. Wenn die gemessenen Peaks nicht mit der Höhe der Histogrammbalken übereinstimmen und nicht auf seltene oder unerwartete Mutationen zurückgeführt werden können, ist das Ergebnis nicht als Grundlage für die Bewertung des Mutationsstatus geeignet. Es wird empfohlen die Probe erneut zu analysieren.

Wichtig: Proben, für die eine potenzielle schwache Mutation angegeben wird (Häufigkeit im Bereich von LOD zu LOD + 3 Prozenteinheiten), sollten in Doppelbestimmung zusammen mit einer Probe mit unmethylierter Kontroll-DNA erneut analysiert werden. In diesem Fall wird ein Warnhinweis angezeigt.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch des jeweiligen QIAGEN®-Kits. Handbücher und Gebrauchsanweisungen zu QIAGEN-Kits sind unter www.qiagen.com abrufbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder bei Ihrem örtlichen Distributor angefordert werden.

Markennamen: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN-Gruppe); Windows® (Microsoft Corporation).
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten. PROM-8091-003-

Bestellungen www.qiagen.com/contact | Technische Beratung support.qiagen.com | Internetseite www.qiagen.com