

---

Februar 2017

# Lynvejledning til BRAF Pyro<sup>®</sup> Plug-in

Til installation og anvendelse med PyroMark<sup>®</sup>  
Q24-instrumenter og PyroMark Q24-  
softwareversion 2.0

# Om BRAF Pyro Plug-in

BRAF Pyro Plug-in-pakken indeholder følgende:

- *Lynvejledning til BRAF Pyro Plug-In*
- To installationsfiler
- Referencerapport for funktionsbekræftelse for BRAF Pyro Plug-in

**Bemærk:** BRAF Pyro Plug-in er beregnet til anvendelse udelukkende i kombination med dedikerede BRAF Pyro-kits, der er indiceret til brug som beskrevet i de respektive håndbøger til BRAF Pyro-kittet.

## Installation af BRAF Pyro Plug-in

**Vigtigt:** BRAF Pyro Plug-in skal installeres på **PyroMark Q24-instrumenter med PyroMark Q24-softwareversion 2.0.**

1. Luk PyroMark Q24-software 2.0, hvis den er åben.
2. Åbn \*.zip-installationsfilen, og udpak filerne.
3. Dobbeltklik på setup.exe-filen.
4. Følg instruktionerne i de dialogbokse, der vises.
5. Start PyroMark Q24-software 2.0. BRAF Pyro Plug-in Report vises nu under "AQ Add On Reports/BRAF" (AQ-tilføjelsesrapporter/BRAF) i menuen "Reports" (Rapporter) i AQ-tilstand.
6. Bekræft pluginfunktionaliteten (se "Bekræftelse af pluginfunktionalitet herunder").

# Bekræftelse af funktionalitet for BRAF Pyro Plug-in

**Vigtigt:** Bekræftelsen skal foretages, hver gang der installeres ny software eller foretages opgraderinger på computeren.

Følgende trin beskriver, hvordan det bekræftes, at softwaren fungerer korrekt og ikke er påvirket af ændringer på computeren.

1. Åbn kørslen af "BRAF Example" (BRAF-eksempel) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/BRAF" (Genveje/Eksempelfiler/PyroMark-kørsler/BRAF) i genvejsbrowseren.
2. Foretag en analyse af "BRAF" for alle brønde som beskrevet i "Analyse af en PyroMark Q24-kørsel" herunder.
3. Sammenlign resultaterne med referencerapporten. Hvis resultaterne er identiske, bekræftes korrekt funktion af BRAF Plug-in.

## Analyse af en PyroMark Q24-kørsel

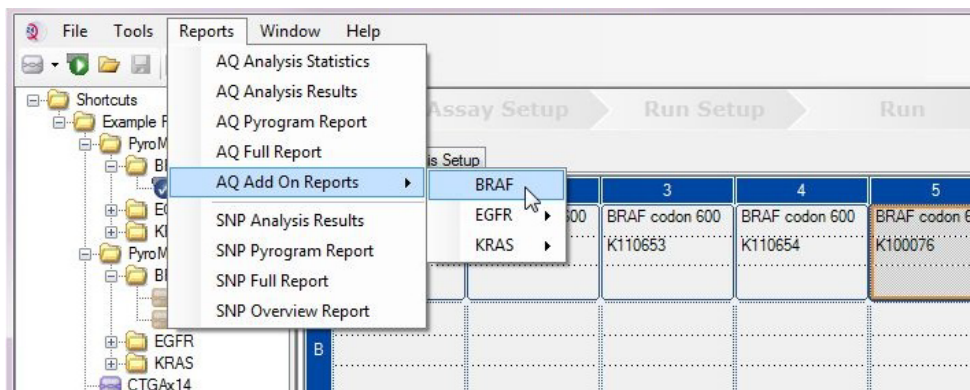
**Vigtigt:** Plugin'et vil rapportere den mutation (Tabel 1), der passer bedst til det observerede pyrogram.

**Vigtigt:** Nogle af de relevante mutationer i codon 600 samt codons 469-469 kan muligvis ikke adskilles præcist ved mutationsniveauer under 10 %.

Følgende trin beskriver mutationsanalysen for en afsluttet BRAF-kørsel ved hjælp af BRAF Pyro Plug-in.

1. Sæt USB-nøglen med den behandlede kørselsfil i USB-porten på computeren.

2. Flyt kørselsfilen fra USB-nøglen til den ønskede placering på computeren ved hjælp af Windows® Stifinder.
3. Åbn kørselsfilen i AQ-tilstand i PyroMark Q24-softwaren ved enten at vælge "Open" (Åbn) i menuen "File" (Filer) eller dobbeltklikke på filen (✓) i genvejsbrowseren.
4. Vælg "AQ Add On Reports/BRAF" i menuen "Reports" (Figur 1).



Figur 1. Mutationsanalyse for en afsluttet BRAF-kørsel ved hjælp af BRAF Pyro Plug-in.

5. Brøndene analyseres automatisk for samtlige mutationer, der er angivet i Tabel 1. Resultaterne for både BRAF codon 600 og BRAF codon 464-469-analysen præsenteres i en oversigtstabel (Figur 2) efterfulgt af de detaljerede resultater, som inkluderer Pyrograms® og analysekvalitet.

**Tabel 1. Mutationer analyseres i BRAF Pyro Plug-in**

Nukleinsyresubstitution	Aminosyre-substitution	LOB (procentenheder)	LOD (procentenheder)	COSMIC-id* (V70)
<b>BRAF codon 600</b>				
1799T>A	V600E	0,4	2,4	476
1799T>G	V600G	0,1	2,1 (5) <sup>†</sup>	6137
1799T>C	V600A	0,2	2,2 (7) <sup>†</sup>	18443
1798G>A	V600M	0,4	2,4	1130
1799_1800TG>AA	V600Ecomplex	0,4	2,4	475
1799_1800TG>AT	V600D	2,3	4,3	477
1798_1799GT>AA	V600K	0,1	2,1	473
1798_1799GT>AG	V600R	0,2	2,2	474
<b>BRAF codons 464–469</b>				
1406G>A	G469E	1,1	3,1	461
1406G>C	G469A	1,2	3,8	460
1406G>T	G469V	1,1	3,1	459
1405_1406GG>TC	G469S	1,5	3,5	458
1397G>A	G466E	4,1	8,6	453
1397G>T	G466V	1,3	3,3	451
1391G>A	G464E	1,3	3,4	449
1391G>T	G464V	0,3	2,3	450

\* Fra Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, der er tilgængeligt online på Sanger Institutes websted på [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/).

† Laveste mutationsniveau i en prøve, der resulterer i en målt hyppighed  $\geq$  LOD.

## Summary

Well	Assay Name	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	Codons 600	WT control	No mutation detected				
A2	Codons 600	K110652	Potential low level mutation	4.8	1799T>A	V600E	⚠
A3	Codons 600	K110653	No mutation detected				
A4	Codons 600	K110654	Mutation	34.6	1798_1799GT>AG	V600R	
A5	Codons 600	K100076	Mutation	26.4	1798_1799GT>AA	V600K	
A6	Codons 600	K110282	No mutation detected				
A8	Codons 600	NTC	Failed Analysis				⚠
C1	Codons 464 to 469	WT control	No mutation detected				
C2	Codons 464 to 469	K110652	No mutation detected				
C3	Codons 464 to 469	K110653	Mutation	29.0	1406G>T	G469V	
C4	Codons 464 to 469	K110654	No mutation detected				
C5	Codons 464 to 469	K100076	No mutation detected				
C6	Codons 464 to 469	K110282	Mutation	27.8	1391G>A	G464E	
C8	Codons 464 to 469	NTC	Failed Analysis				⚠

⚠ See detailed results below.

NOTE: The result must be validated by comparing the observed peaks with the expected peak heights displayed as grey bars. For further information about data evaluation and result interpretation please refer to the handbook.

**Figur 2. Oversigt over eksempelresultater fra en analyse af BRAF Pyro Plug-in.**

## Fortolkning af resultater og påvisning af mutationer med lavt niveau

Det anbefales på det kraftigste at medtage en vildtypeprøve i hver enkelt kørsel til sammenligning og kontrol af baggrunds niveauer.

**Vigtigt:** Hvis kvalitetsvurderingen ender med "Check" (Kontrollér) eller "Failed" (Ikke godkendt), kan det skyldes et uventet spidsmønster. Dette kan indikere en uventet mutation, der ikke analyseres i Plug-in Report. Sådanne prøver skal analyseres manuelt ved hjælp af PyroMark Q24-softwaren med hensyntagen til, at de kan indeholde uventede mutationer. Se flere oplysninger i håndbogen til det relevante BRAF Pyro-kit.

**Vigtigt:** Pyrogrammet skal altid sammenlignes med histogrammet, som vises i de detaljerede resultater af Plug-in Report og kan vises i PyroMark Q24-softwaren ved at højreklikke i pyrogramvinduet. Pyrogrammet skal undersøges for forekomsten af uventede spidser. I tilfælde af at de målte spidser ikke svarer til højden af søjlerne i histogrammet, og dette ikke kan forklares med sjældne eller uventede mutationer, kan resultatet ikke bruges som basis for en vurdering af mutationsstatus. Det anbefales at køre prøven igen.

**Vigtigt:** Prøver med en rapporteret potentiel lavniveaumutation (hyppighed i området fra LOD til LOD+ 3 %-enheder) skal omkøres i duplikeret form sammen med en prøve med umethyleret kontrol-DNA. I dette tilfælde vises en advarsel. Prøven må kun betragtes som positiv for mutationen, hvis begge duplikater bekræfter resultatet af den originale analyse og er synligt forskellig fra den normale kontrol. I modsat fald skal prøven vurderes som vildtype.

**Vigtigt:** Med henblik på en nærmere undersøgelse af prøver med en rapporteret, potentiel lavniveaumutation anbefaler vi, at prøven yderligere analyseres manuelt i PyroMark Q24-softwaren, f.eks. for at sammenligne med kontrolprøvens mutationshyppighed (se flere instruktioner i den tilsvarende protokol). En målt hyppighed over LOB i kontrolprøven antyder et højere baggrundsniveau end normalt i den tilsvarende kørsel, hvilket kan påvirke allelekvantificeringen især i tilfælde af lave mutationsniveauer. I dette tilfælde er rapporterede potentielle lavniveaumutationer ikke basis for vurdering af mutationsstatus, og det anbefales at genkøre prøver med en potentiel lavniveaumutation.

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugervejledning til QIAGEN®-kittet. Håndbøger og brugervejledninger til QIAGEN-kittet findes på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan rekvireres fra QIAGENs tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).  
1106188 02/2017 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes. PROM-8090-003

Bestilling [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Teknisk service [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Websted [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)