

Februar 2017

Lynvejledning til EGFR Pyro[®] Plug-in

Til installation og anvendelse med PyroMark[®]
Q24-instrumenter og PyroMark Q24-
softwareversion 2.0

Om EGFR Pyro Plug-in

EGFR Pyro Plug-in-pakken indeholder følgende:

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

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

Installation af EGFR Pyro Plug-in

Vigtigt: EGFR 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. EGFR Pyro Plug-in Reports vises nu under "AQ Add On Reports/EGFR" (AQ-tilføjelsesrapporter/EGFR) i menuen "Reports" (Rapporter) i AQ-tilstand.
6. Bekræft pluginfunktionaliteten (se "Bekræftelse af funktionalitet for EGFR Pyro Plug-in herunde").

Bekræftelse af funktionalitet for EGFR Pyro Plug-in

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

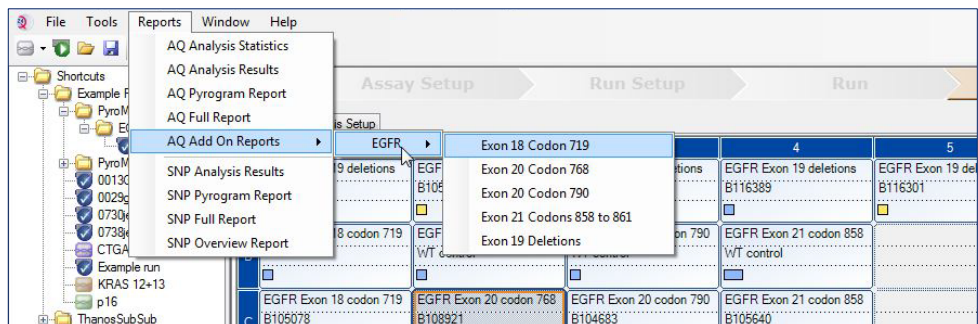
Følgende trin beskriver, hvordan det bekræftes, at softwaren fungerer korrekt og ikke er påvirket af ændringer på computeren.

1. Åbn kørslen af "EGFR Example" (EGFR-eksempel) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR" (Genveje/Eksempelfiler/PyroMark-kørsler/EGFR) i genvejsbrowseren.
2. Foretag en analyse af "EGFR Exon 19 Deletions" (EGFR exon 19-sletninger) 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 EGFR Pyro Plug-in.

Analyse af en PyroMark Q24-kørsel

Følgende trin beskriver mutationsanalysen for en afsluttet EGFR-kørsel ved hjælp af EGFR 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/EGFR" og "Exon 18 Codon 719", "Exon 20 Codon 768", "Exon 20 Codon 790", "Exon 21 Codons 858 to 861" (Exon 21 codoner 858 til 861) eller "Exon 19 Deletions" (Exon 19-sletninger) fra "Reports" i menuen (Figur 1).



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

5. Brøndene analyseres automatisk for samtlige mutationer, hvor der er angivet en LOD i Tabel 1. Resultaterne præsenteres i en oversigtstabel (se eksemplet i Figur 2 nedenfor) efterfulgt af detaljerede resultater, som inkluderer Pyrograms® og analysekvalitet.

Tabel 1. LOB og LOD bestemt for specifikke mutationer med EGFR Pyro Plug-in

Mutation	Aminosyresubstitution	LOB (procentenheder)	LOD (procentenheder)	COSMIC-id* (V70)
Sletninger af 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

* Fra Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, der er tilgængeligt online på Sanger Institutes websted på www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic.

[†] Laveste mutationsniveau i en prøve, der resulterer i en målt hyppighed \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.

Figur 2. Oversigt over eksempelresultater fra en analyse af EGFR 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 og med hensyntagen til uventede mutationer. Se flere oplysninger i håndbogen til det relevante EGFR 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.

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 eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes. PROM-8091-003

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk service support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com