

Únor 2017

Průvodce rychlým spuštěním modulu plug-in EGFR Pyro[®]

Pro instalaci a používání s přístroji PyroMark[®]
Q24 a softwarem PyroMark Q24 verze 2.0

O modulu plug-in EGFR Pyro

Balíček modulu plug-in EGFR Pyro obsahuje:

- *průvodce rychlým spuštěním modulu plug-in EGFR Pyro,*
- dva instalační soubory,
- referenční zprávu pro ověření funkce modulu plug-in EGFR Pyro.

Poznámka: Modul plug-in EGFR Pyro je určen jen pro použití v kombinaci s vyhrazenými sadami EGFR Pyro indikovanými pro aplikace popsané v příslušných příručkách k sadám EGFR Pyro.

Instalace modulu plug-in EGFR Pyro

Důležité: Modul plug-in EGFR Pyro musí být instalován na **přístrojích PyroMark Q24 se softwarem PyroMark Q24 verze 2.0.**

1. Zavřete software PyroMark Q24 2.0, pokud je otevřený.
2. Otevřete instalační soubor *.zip a extrahujte soubory.
3. Dvojitě klikněte na soubor setup.exe.
4. Postupujte podle pokynů, které se zobrazí v dialogových oknech.
5. Spustěte software PyroMark Q24 2.0. Zprávy modulu plug-in EGFR Pyro se nyní objeví pod položkou „AQ Add On Reports/EGFR“ (Přidat AQ zprávu/EGFR) v nabídce „Reports“ (Zprávy) v režimu AQ.
6. Ověřte funkčnost modulu plug-in (viz část „Ověření funkčnosti modulu plug-in EGFR Pyro“ dále).

Ověření funkčnosti modulu plug-in EGFR Pyro

Důležité: Ověření je třeba provést při každé instalaci nebo upgradu nového softwaru v počítači.

Následující kroky popisují způsob ověření, že software správně funguje a nebyl ovlivněn žádnými změnami v počítači.

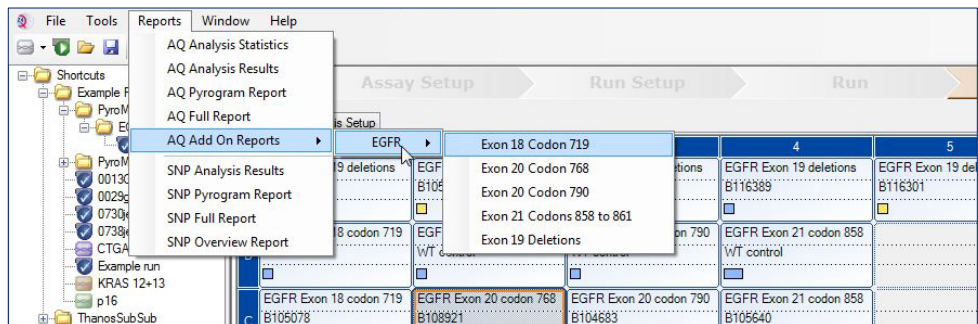
1. V prohlížeči klávesových zkratk otevřete cyklus „EGFR Example“ (Příklad EGFR) ve složce „Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR“ (Klávesové zkratky/Soubory příkladů/Cykly PyroMark/EGFR).
2. Proveďte analýzu „EGFR Exon 19 Deletions“ (Delece exonu 19 v EGFR) pro všechny jamky, jak je popsána v části „Analýza cyklu v systému PyroMark Q24“ dále.
3. Výsledky porovnejte s referenční zprávou. Jsou-li výsledky totožné, je potvrzena správná funkce modulu plug-in EGFR Pyro.

Analýza cyklu v systému PyroMark Q24

Následující kroky popisují analýzu mutace dokončeného cyklu EGFR pomocí zprávy z modulu plug-in EGFR.

1. Zasuňte USB jednotku obsahující vytvořený soubor cyklu do USB portu počítače.
2. Pomocí Průzkumníku Windows® přesuňte soubor cyklu z USB jednotky do požadovaného umístění v počítači.
3. Otevřete soubor cyklu v režimu AQ softwaru PyroMark Q24 buď zvolením možnosti „Open“ (Otevřít) v nabídce „File“ (Soubor) nebo dvojitým kliknutím na soubor (📁) v prohlížeči zkratk.
4. Z nabídky „Reports“ vyberte možnost „AQ Add On Reports/EGFR“ a „Exon 18 Codon 719“ (Exon 18, kodon 719), „Exon 20 Codon 768“ (Exon 20, kodon 768), „Exon 20

Codon 790“ (Exon 20, kodon 790), „Exon 21 Codons 858 to 861“ (Exon 21, kodony 858 až 861) nebo „Exon 19 Deletions“ (Exon 19, delece) (obrázek 1).



Obrázek 1. Analýza mutace dokončeného cyklu EGFR pomocí modulu plug-in EGFR Pyro

5. V jamkách automaticky proběhne analýza všech mutací, pro které je dána mez detekce (Limit of Detection, LOD) v tabulce 1. Výsledky se zobrazí v přehledné tabulce (viz příklad na obrázku 2 níže) a následují i podrobné výsledky, které zahrnují grafy Pyrograms® (Pyrogramy) a kvalitu analýzy.

Tabulka 1. LOB a LOD určené pro specifické mutace pomocí modulu plug-in EGFR Pyro

Mutace	Substituční aminokyseliny	LOB (% jednotek)	LOD (% jednotek)	COSMIC ID* (V70)
Delece exonu 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
Exon 18, kodon 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, kodon 768 (AGC)				
ATC	S768I	2,6	5,0	6241
Exon 20, kodon 790 (ACG)				
ATG	T790M	7,0	10,7	6240
Exon 21, kodon 858 (CTG)				
CGG	L858R	0,6	2,6 (5,5) [†]	6224
Exon 21, kodon 861 (CTG)				

CAG	L861Q	3,2	4,3	6213
CGG	L861R	1,9	4,2	12374

* Podle Katalogu somatických mutací při nádorových onemocněních (COSMIC, Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) dostupného online na stránkách ústavu Sanger Institute www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

† Nejnižší úroveň mutace ve vzorku, která vede k naměření frekvence \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.

Obrázek 2. Příklad přehledu výsledků analýzy modulu plug-in EGFR Pyro

Interpretace výsledků a detekce mutací s nízkou úrovní výskytu

Je důrazně doporučeno, aby každý cyklus zahrnoval i vzorek divokého typu pro srovnání a jako kontrolu úrovní v pozadí.

Důležité: Hodnocení kvality „Check“ (Ověřit) nebo „Failed“ (Selhalo) může být vyvoláno neočekávaným uspořádáním píků. Tento jev může poukazovat na přítomnost neočekávané mutace, která není součástí analýzy dané ve zprávě v modulu plug-in. Takové vzorky by se měly analyzovat manuálně pomocí softwaru PyroMark Q24 a s ohledem na možnost přítomnosti neočekávaných mutací. Bližší informace viz příslušná příručka k sadě EGFR Pyro.

Důležité: Pyrogram je nutné vždy porovnat s histogramem, který se zobrazí v podrobných výsledcích ve zprávě v modulu plug-in a lze jej zobrazit v softwaru PyroMark Q24 kliknutím pravým tlačítkem myši na okno „Pyrogram“. Pyrogram je nutné zkontrolovat, zda se v něm nevyskytují neočekávané píky. Pokud naměřené píky výškově neodpovídají sloupcům histogramu a tento jev nelze vysvětlit vzácnými nebo neočekávanými mutacemi, není podle výsledku možné posoudit stav mutací. Doporučuje se provést novou analýzu vzorku.

Důležité: Vzorky s hlášenou potenciální mutací s nízkou úrovní výskytu (frekvence v rozmezí LOD až LOD + 3 % jednotek) je třeba analyzovat duplicitně se vzorkem s nemethylovanou kontrolní DNA. V takovém případě se zobrazí upozornění.

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGENQIAGEN® nebo v příručce uživatele. Příručky a uživatelské návody sady QIAGEN jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com, nebo si lze vyžádat u Technických služeb QIAGEN nebo svého lokálního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, všechna práva vyhrazena. PROM-8091-003

Objednávky www.qiagen.com/contact | Technická podpora support.qiagen.com | Webová stránka www.qiagen.com