
Februar 2016

Hurtigveiledning for KRAS Pyro[®] Plug-in

Til installasjon og bruk med PyroMark[®] Q24-
instrumenter og PyroMark Q24-programvaren,
versjon 2.0

Om KRAS Pyro Plug-in

KRAS Pyro Plug-in-pakken inneholder:

- *Hurtigveiledning for KRAS Pyro Plug-in*
- To installasjonsfiler
- Referanserapport for verifisering av KRAS Pyro Plug-in-funksjonen

Merk: KRAS Pyro Plug-in skal kun brukes i kombinasjon med dedikerte KRAS Pyro-sett og RAS Extension Pyro-sett indisert for applikasjoner som er beskrevet i de tilhørende håndbøkene for KRAS Pyro Kit og RAS Extension Pyro Kit.

Installasjon av KRAS Pyro Plug-in

Viktig: KRAS Pyro Plug-in må være installert på **PyroMark Q24-instrumentene med PyroMark Q24-programvaren, versjon 2.0.**

1. Lukk PyroMark Q24-programvare 2.0 hvis den er åpen.
2. Åpne *.zip-installasjonsfilen, og pakk ut filene.
3. Dobbeltklikk på setup.exe-filen.
4. Følg instruksjonene i dialogboksene som vises.
5. Start PyroMark Q24-programvare 2.0. KRAS Pyro Plug-in-rapporten vises nå under "AQ Add On Reports/KRAS" (AQ legge til rapporter / KRAS) fra menyen "Reports" (Rapporter) i AQ-modus.
6. Verifiser Plug-in-funksjonen (se "Verifisering av KRAS Pyro Plug-in-funksjonen" nedenfor).

Verifisering av KRAS Extension Pyro Plug-in-funksjonen

Viktig: Verifiseringen skal utføres hver gang ny programvare blir installert eller oppgradert på datamaskinen.

Følgende trinn beskriver hvordan du kan bekrefte at programvaren fungerer som den skal og ikke er påvirket av eventuelle endringer i datamaskinen.

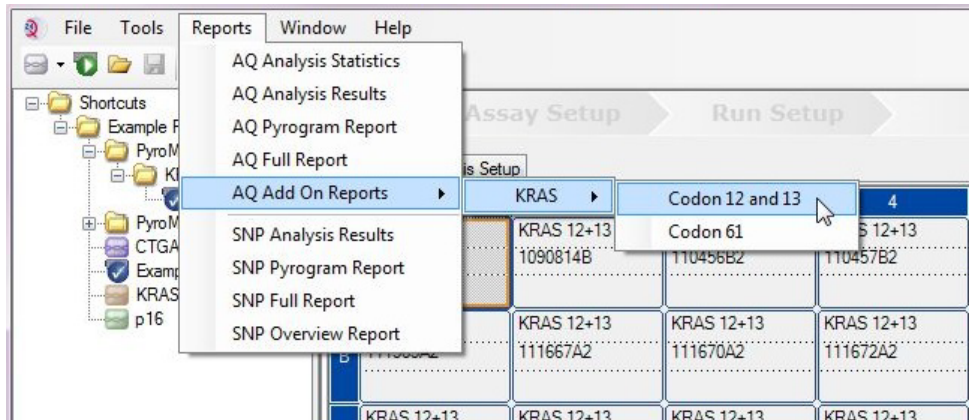
1. Åpne "KRAS Example"-kjøringen (KRAS-eksempel) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/KRAS" (Snarveier/Eksempelfiler/PyroMark-kjøringer/KRAS) i nettleserens snarveifunksjon.
2. Utfør en "KRAS-kodon 12 og 13"-analyse for alle brønner som er beskrevet i "Analyse av en PyroMark Q24-kjøring" nedenfor.
3. Sammenlign resultatene med referanserapporten. Hvis resultatene er identiske, blir riktig funksjon for Plug-in bekreftet.

Analyse av en PyroMark Q24-serie

Følgende trinn beskriver mutasjonsanalysen av en ferdig KRAS-kjøring med KRAS Pyro Plug-in.

1. Sett USB-enheten (som inneholder den behandlede seriefilen) inn i datamaskinens USB-port.
2. Overfør seriefilen fra USB-enheten til ønsket plassering på datamaskinen ved hjelp av Windows® Utforsker.
3. Åpne seriefilen i AQ-modus i PyroMark Q24-programvaren ved å velge "Open" (Åpne) i menyen "File" (Fil) eller ved å dobbeltklikke på filen (👉) i snarveifunksjonen.

4. Velg "AQ Add On Reports/KRAS" og "Codon 12 and 13" (Kodon 12 og 13) eller "Codon 61" (Kodon 61) fra "Reports" i menyen (figur 1).



Figur 1. Mutasjonsanalyse av en ferdig KRAS-kodon 12 og 13-kjøring med KRAS Pyro Plug-in.

5. Brønnene vil automatisk bli analysert for alle mutasjoner angitt i tabell 1. Resultatene vil bli presentert i en oversiktstabell (figur 2), etterfulgt av detaljerte resultater som inneholder Pyrogram[®] og analysekvalitet.

Viktig: KRAS Pyro Plug-in-enheten vil rapportere den mutasjonen (tabell 1) som har et forventet signal som passer best til observert Pyrogram.


Tabell 1. Mutasjoner analysert av KRAS Extension Pyro Plug-in

Nukleinsyresubstitusjon	Aminosyresubstitusjon	LOB (% enheter)	LOD (% enheter)	COSMIC ID* (V72)
Kodon 12 (GGT)				
GAT	G12D	0,6	2,2	521
GTT	G12V	4,9	8	520
TGT	G12C	0,5	2,1	516
AGT	G12S	0,4	1,9	517
GCT	G12A	0,7	2,3	522
CGT	G12R	0,3	1,8	518
Kodon 13 (GGC)				
GAC	G13D	0,3	1,9	532
Kodon 61 (CAA), analysert i revers retning (TTG)				
GTG	Q61H	0,8	2,8	554
TAG	Q61L	1,2	3,1	553
TCG	Q61R	1,6	3,5	552
ATG	Q61H	0,7	2,6	555
TTC	Q61E	1,2	3,1	550

* Fra "Catalogue of Somatic Mutations in Cancer" (katalog over somatiske mutasjoner ved kreft), tilgjengelig fra Sanger Institute på www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

Summary

NOTE: Only the mutation with the highest frequency is reported.

Well	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	106506B1	Mutation	28.8	GGT>AGT	G12S	
A2	1090814B	Wildtype				
A3	110456B2	Potential low level mutation	2.3	GGT>AGT	G12S	
A4	110457B2	Wildtype				
A5	110462A2	Wildtype				
A6	110486A2	Mutation	24.9	GGT>GCT	G12A	
A7	111207A2	Mutation	31.6	GGT>GTT	G12V	
A8	111555A2	Mutation	39.7	GGT>GAT	G12D	
B1	111565A2	Mutation	37.5	GGT>GAT	G12D	
B2	111667A2	Mutation	26.7	GGT>GTT	G12V	
B3	111670A2	Wildtype				
B4	111672A2	Mutation	21.1	GGT>GTT	G12V	
B5	112307A2	Wildtype				
B6	113070A2	Wildtype				
B7	113188A1	Mutation	55.1	GGT>TGT	G12C	

Figur 2. Eksempel på et resultatsammendrag fra en KRAS Pyro Plug-in-analyse.

Tolkning av resultater og deteksjon av mutasjoner med lavt nivå

Det anbefales på det sterkeste å ta med en villtypeprøve i hver analyseserie for å kunne utføre en sammenligning og kontrollere bakgrunnsnivåer.

Viktig: Kvalitetsvurderinger som "Check" (Kontroller) eller "Failed" (Mislyktes) kan forårsakes med et uventet mønster av topper. Dette kan indikere en uventet mutasjon, noe som ikke analyseres av Plug-in-rapporten. Disse prøvene bør analyseres manuelt ved hjelp av PyroMark Q24-programvaren og vurderes med tanke på at de kan inneholde uventede mutasjoner. Se tilhørende håndbok for KRAS Pyro Kit eller RAS Extension Pyro Kit for mer informasjon.

Viktig: Pyrogram må alltid sammenlignes med histogrammet som vises for de detaljerte resultatene i Plug-in-rapporten, og som kan vises i PyroMark Q24-programvaren ved å høyreklikke i Pyrogram-vinduet. Pyrogram bør undersøkes for tilstedeværelse av uventede topper. Hvis de målte toppene ikke stemmer overens med høydene på histogram søylene og ikke kan forklares av sjeldne eller uventede mutasjoner, danner ikke resultatet grunnlag for å bedømme mutasjonsstatus. Det er anbefalt å kjøre prøven på nytt.

Viktig: Prøver med en rapportert potensiell mutasjon med lavt nivå (frekvens i området fra LOD til LOD+ 3 % enheter) skal bare kjøres på nytt i duplikat sammen med en prøve med umetylet kontroll-DNA. En advarsel vil bli vist i slike tilfeller. Prøven skal kun regnes som positiv for mutasjonen hvis begge duplikater bekrefter resultatet av den opprinnelige analysen og er synlig forskjellig fra den normale kontrollen. Hvis ikke skal prøven anses som villtype.

Viktig: For en nærmere undersøkelse av prøver med en rapportert potensiell mutasjon med lavt nivå anbefaler vi i tillegg å analysere prøven manuelt i PyroMark Q24-programvaren, f.eks. for å sammenligne med kontrollprøvens mutasjonsfrekvens (se "Protokoll 6: Analyse av en PyroMark Q24-kjøring" i den aktuelle håndboken for RAS Extension Pyro Kit for detaljerte instruksjoner). En målt frekvens over LOB i kontrollprøven indikerer et høyere bakgrunnsnivå enn vanlig i den tilhørende serien, som kan påvirke allelkvantifisering, særlig for lave mutasjonsnivåer. I dette tilfellet danner ikke rapporterte mulige lave mutasjonsnivåer et grunnlag for vurdering av mutasjonsstatus, og det anbefales å analysere prøver med en potensiell mutasjon med lavt nivå på nytt.

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller brukerhåndboken for QIAGEN® Kit. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN Kit er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan bestilles fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation).
1106192 02/2017 © 2017 QIAGEN, med enerett. PROM-8151-003

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettsted www.qiagen.com