

2017. február

RAS Extension Pyro[®] beépülő modul – Rövid útmutató

A 2.0-s verziójú PyroMark Q24 szoftvert futtató
PyroMark[®] Q24 készülékeken való telepítésre
és használatra

A RAS Extension Pyro beépülő modul bemutatása

A RAS Extension Pyro beépülő modul csomagja a következőket tartalmazza:

- *RAS Extension Pyro beépülő modul – Rövid útmutató*
- Két telepítőfájl
- Referenciajelentés a RAS Extension Pyro beépülő modul működésének ellenőrzésére

Megjegyzés: A RAS Extension Pyro beépülő modul kizárólag a NRAS Pyro kitekkel és RAS Extension Pyro kitekkel, a NRAS Pyro kitek és a RAS Extension Pyro kitek kézikönyvében ismertetett alkalmazási területeken használható.

A RAS Extension Pyro beépülő modul telepítése

Fontos: A RAS Extension Pyro beépülő modul csak **2.0-s verziójú PyroMark Q24 szoftvert futtató PyroMark Q24 készülékekre** telepíthető.

1. Zárja be a 2.0-s PyroMark Q24 szoftvert, ha meg van nyitva.
2. Nyissa meg a telepítési *.zip fájlt, és csomagolja ki a fájlokat.
3. Kattintson duplán a setup.exe fájlra.
4. Kövesse a megjelenő párbeszédpaneleken látható utasításokat.
5. Indítsa el a 2.0-s PyroMark Q24 szoftvert. Az indítást követően AQ módban megjelenik a RAS Extension Pyro beépülő modul jelentése a „Reports” (Jelentések) menü „AQ Add On Reports/RAS Extension” (AQ bővítmény jelentései / RAS Extension) menüpontjában.
6. Ellenőrizze a beépülő modul működését (lásd alább „A RAS Extension Pyro beépülő modul működésének ellenőrzése” című részt).

A RAS Extension Pyro beépülő modul működésének ellenőrzése

Fontos: Az ellenőrzést mindig el kell végezni, ha új szoftvert telepítenek a számítógépre, vagy frissítik a számítógép valamely szoftverét.

A következő lépések segítségével ellenőrizheti a szoftver megfelelő működését, illetve azt, hogy a számítógépen végzett módosítások hatással voltak-e a szoftverre.

1. A hivatkozásokat tartalmazó böngészőfelületen nyissa meg a „Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/RAS Extension” (Hivatkozások/Mintafájlok/PyroMark futtatások/RAS Extension) mappastruktúrát követve a „RAS Extension Example” (RAS Extension teszt) futtatást.
2. Végezze el a „RAS Extension” elemzést az összes mintahely esetében az alábbi „A PyroMark Q24 futtatás elemzése” című részben leírtaknak megfelelően.
3. Hasonlítsa össze az eredményeket a referencijelentésen szereplő eredményekkel. Ha az eredmények megegyeznek, akkor a beépülő modul megfelelően működik.

A PyroMark Q24 futtatás elemzése

A következő lépések egy befejezett RAS Extension futtatás mutációelemzését ismertetik a RAS Extension Pyro beépülő modul használatával.

1. Csatlakoztassa a feldolgozott futtatás fájlját tartalmazó USB-adathordozót a számítógép USB-csatlakozójához.
2. Másolja át a futtatási fájlt az USB-adathordozóról a számítógép kívánt célmappájába a Windows® Explorer használatával.

Fontos: A RAS Extension Pyro beépülő modul azt a mutációt tünteti fel a jelentésen (1. táblázat), amelynek várható jele a legnagyobb fokú egyezést mutatja a kapott Pyrogram lenyomattal.

1. táblázat: Mutációelemzés a RAS Extension Pyro beépülő modul használatával





Nukleinsavcsere	Aminosavcsere	LOB (% egység)	LOD (% egység)	COSMIC ID* (V69)
KRAS – 59. kodon (GCA)				
175G>A	A59T	0,5	3,5	546
176C>G	A59G	0,5	3,5	28518
KRAS – 117. kodon (AAA)				
351A>C	K117N	1,0	4,0	19940
351A>T	K117N	3,6	7,1	28519
KRAS – 146. kodon (GCA)				
436G>A	A146T	2,7	6,6	19404
436G>C	A146P	1,8	4,8	19905
437C>T	A146V	2,1	5,1	19900
NRAS – 12. kodon (GGT)				
34G>A	G12S	1,4	3,4	563
34G>T	G12C	0,6	2,5	562
34G>C	G12R	0,4	2,4	561
35G>A	G12D	1,8	3,8	564
35G>T	G12V	3,8	8,8	566
35G>C	G12A	0,5	2,5	565
NRAS – 13. kodon (GGT)				
37G>A	G13S	1,2	3,2	571
37G>T	G13C	1,2	3,2 (4) [†]	570
37G>C	G13R	0,3	2,3	569
38G>A	G13D	0,8	2,8	573
38G>T	G13V	0,0	2 (5) [†]	574
38G>C	G13A	0,8	2,8	575

Nukleinsavcsere	Aminosavcsere	LOB (% egység)	LOD (% egység)	COSMIC ID* (V69)
NRAS – 59. kodon (GCT)				
175G>A	A59T	3,8	6,9	578
176C>G	A59G	0,0	3,0	–
NRAS – 61. kodon (CAA)				
181C>A	Q61K	4,1	6,7	580
182A>G	Q61R	0,8	2,2	584
182A>T	Q61L	0,7	2,1	583
183A>T	Q61H	0,4	1,8	585
183A>C	Q61H	5,4	8,0	586
183A>G	Q61Q	2,1	5,8	587
NRAS – 117. kodon (AAG)				
351G>C	K117N	1,4	4,4	–
351G>T	K117N	3,0	6,0	–
NRAS – 146. kodon (GCC)				
436G>A	A146T	1,4	4,4	27174
436G>C	A146P	3,5	7,2	–
437C>T	A146V	4,8	7,8	–

* A Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (Szomatikus rákmutációk katalógusa) értékei, amely elérhető a Sanger Institute honlapján: www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic.

† A ≥ LOD gyakoriságot eredményező legalacsonyabb mutációérték a mintában.

Summary

Well	Assay Name	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	KRAS Codon 59	wild-type control	No mutation detected				
A2	KRAS Codon 117	wild-type control	No mutation detected				
A3	KRAS Codon 146	wild-type control	No mutation detected				
A4	NRAS Codon 12 and 13	wild-type control	No mutation detected				
A5	NRAS Codon 59	wild-type control	No mutation detected				
A6	NRAS Codon 61	wild-type control	No mutation detected				
A7	NRAS Codon 117	wild-type control	No mutation detected				
A8	NRAS Codon 146	wild-type control	No mutation detected				
B1	KRAS Codon 59	sample	Mutation	35,0	175G>A	A59T	
B2	KRAS Codon 117	sample	No mutation detected				
B3	KRAS Codon 146	sample	Mutation	29,6	437C>T	A146V	
B4	NRAS Codon 12 and 13	sample	No mutation detected				
B5	NRAS Codon 59	sample	Mutation	20,5	176C>G	A59G	
B6	NRAS Codon 61	sample	No mutation detected				
B7	NRAS Codon 117	sample	Potential low level mutation	5,0	351G>C	K117N	
B8	NRAS Codon 146	sample	No mutation detected				
C1	KRAS Codon 59	NTC	Failed Analysis				
C2	KRAS Codon 117	NTC	Failed Analysis				
C3	KRAS Codon 146	NTC	Failed Analysis				

2. ábra: Példa a RAS Extension Pyro beépülő modulal végzett elemzés eredmény-összefoglaló táblázatára

Az eredmények értelmezése és az alacsony értéket adó mutációk kimutatása

Erősen ajánljuk, hogy összehasonlítás, illetve a háttérértékek ellenőrzése céljából minden futtatásban szerepeljen egy vad típusú minta is.

Fontos: A „Check” (Ellenőrizendő) vagy „Failed” (Sikertelen) minőségi értékelést a nem várt csúscsintázat okozhatja. Ez jelezhet egy olyan váratlan mutációt, amely nem szerepel a beépülő modul jelentéséhez végzett elemzésben. Mivel a minták nem várt mutációkat

tartalmazhatnak, elemzésüket manuálisan, a PyroMark Q24 szoftver használatával kell elvégezni. További részleteket a megfelelő NRAS Pyro kit vagy RAS Extension Pyro kit kézikönyvében talál.

Fontos: A Pyrogram lenyomatot mindig össze kell vetni a hisztogrammal, amely a beépülő modul által létrehozott jelentés részletes eredményeket tartalmazó részében található, illetve a PyroMark Q24 szoftverben jobb egérgombbal a Pyrogram ablakba kattintva jeleníthető meg. Ellenőrizni kell, hogy a Pyrogramon láthatók-e nem várt csúcsok. Ha a mért csúcsok nem egyeznek a hisztogramoszlopok magasságával, és ez nem magyarázható ritka vagy váratlan mutációval, akkor az eredmény nem használható a mutációs státusz megítélésére. Javasolt a minta újrafuttatása.

Fontos: Azon minták esetében, amelyekben a jelentés alapján alacsony értéket adó mutáció lehet jelen (a mutációs gyakoriság az LOD és az LOD + 3% egység között van), két párhuzamossal és egy metilálatlan kontroll DNS-t tartalmazó mintával meg kell ismételni a futtatást. Ilyenkor megjelenik egy figyelmeztetés. A minta csak akkor tekinthető pozitívnak az adott mutációra nézve, ha mindkét párhuzamos megerősíti az eredeti elemzésnél kapott eredményt, és láthatóan eltér a normál kontrolltól. Ellenkező esetben a mintát vad típusúnak kell tekinteni.

Fontos: Javasoljuk, hogy azon minták esetében, amelyeknél a jelentés alapján fennáll az alacsony értéket adó mutáció lehetősége, végezzen el egy további manuális elemzést a PyroMark Q24 szoftverrel, pl. a kontrollminta mutációs gyakoriságával való összehasonlítás céljából (a részletes utasításokat a megfelelő RAS Extension Pyro kit kézikönyvében találja: „6. protokoll: A PyroMark Q24 futtatás elemzése”). Ha a kontrollmintánál az LOB feletti gyakoriság tapasztalható, az a szokásosnál magasabb háttérértéket jelez az adott futtatás esetében, amely hatással lehet az allélkvantifikálásra, különösen alacsony értéket adó mutációknál. Ilyen esetben azok a minták, amelyek a jelentés alapján alacsony értéket adó mutációt tartalmazhatnak, nem használhatók fel a mutációs státusz megítéléséhez, és javasolt őket újrafuttatni.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a **www.qiagen.com** webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatól vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN Csoport); Windows® (Microsoft Corporation).
1106191 02/2017 © QIAGEN, minden jog fenntartva. PROM-8093-003

Rendelés: www.qiagen.com/contact | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com