

2017 vasaris

# „GIST RapidScreen Pyro<sup>®</sup>“ priedo greito pasirengimo darbui vadovas

Skirtas diegti ir naudoti su „PyroMark<sup>®</sup> Q24“  
instrumentais ir „PyroMark Q24“ 2.0 versijos  
programine įranga

# Apie „GIST RapidScreen Pyro“ priedą

„GIST RapidScreen Pyro“ priedo pakuotėje yra:

- „GIST RapidScreen Pyro“ greito pasirengimo darbui vadovas
- Du diegimo failai
- „GIST RapidScreen Pyro“ priedo funkcijų patikrinimo nuorodinė ataskaita

**Pastaba:** „GIST RapidScreen Pyro“ priedas skirtas naudoti tik kartu su specialiuoju „therascreen® GIST RapidScreen Pyro“ rinkiniu (kat. Nr. 971510), kurio paskirtis aprašyta „therascreen GIST RapidScreen Pyro“ rinkinio vadove (*therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook*).

## „GIST RapidScreen Pyro“ priedo diegimas

**Svarbu:** „GIST RapidScreen Pyro“ priedas turi būti diegiamas „PyroMark Q24“ instrumente su „PyroMark Q24“ 2.0 versijos programine įranga arba „PyroMark Q24 MDx“ instrumente su „PyroMark Q24 MDx“ 2.0 versijos programine įranga.

Jei „PyroMark Q24“ 2.0 versijos programinė įranga atidaryta, uždarykite ją.

1. Atidarykite diegimo failą \*.zip ir išskleiskite failus.
2. Dukart spustelėkite failą setup.exe.
3. Vykdykite atsidariusiuose dialogo languose rodomas instrukcijas.
4. Paleiskite „PyroMark Q24“ 2.0 versijos programinę įrangą. Dabar „GIST RapidScreen Pyro“ priedo ataskaita AQ režimu rodoma meniu „Reports“ (ataskaitos) dalyje „AQ Add On Reports / GIST“ (AQ priedo ataskaitos / GIST).
5. Patikrinkite „GIST RapidScreen Pyro“ priedo funkcijas (žr. toliau „GIST RapidScreen Pyro“ priedo funkcijų tikrinimas“).

# „GIST RapidScreen Pyro“ priedo funkcijų tikrinimas

**Svarbu:** tikrinimas turi būti atliekamas kiekvieną kartą įdiegus arba atnaujinus kompiuterio programinę įrangą.

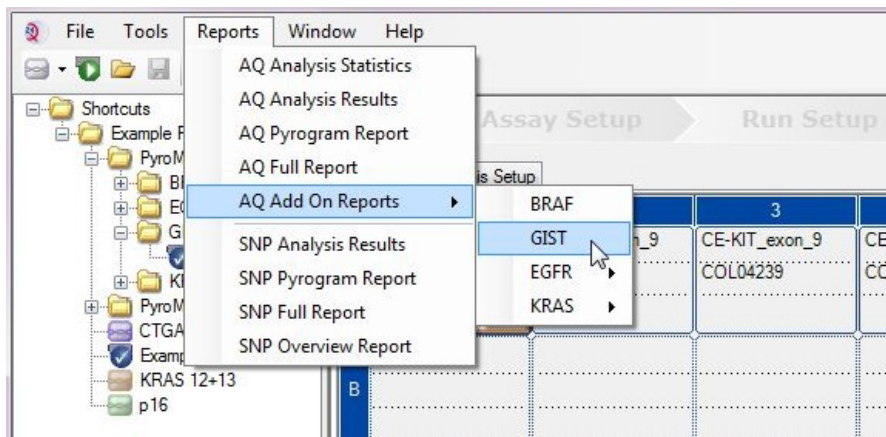
Toliau pateikti veiksmai padės nustatyti, ar programinė įranga veikia tinkamai ir ar kompiuteryje atlikti pakeitimai jos nepaveikė.

6. Atidarykite „GIST Example“ (GIST pavyzdys) nuorodų naršyklėje pasirinkę „Shortcuts / Example Files / PyroMark Runs / GIST“ (nuorodos / failų pavyzdžiai / „PyroMark“ tyrimai / GIST).
7. Atlikite visų šulinėlių GIST analizę, kaip aprašyta tolesniame skyrelyje „PyroMark Q24“ tyrimo analizė“.
8. Palyginkite rezultatus su nurodine ataskaita. Jei rezultatai sutampa, priedo funkcijos veikia tinkamai.

## „PyroMark Q24“ tyrimo analizė

Toliau pateikti veiksmai nurodo, kaip atlikti užbaigto GIST tyrimo mutacijų analizę, naudojant „GIST RapidScreen Pyro“ priedą.

1. Įstatykite USB atmintinę su apdorotu tyrimo failu į kompiuterio USB jungtį.
2. Naudodami „Windows® Explorer“ perkeltkite tyrimo failą iš USB atmintinės į norimą vietą kompiuteryje.
3. Meniu „File“ (failas) pasirinkę „Open“ (atidaryti) arba dukart spustelėję failą (👉) nuorodų naršyklėje, atidarykite tyrimo failą „PyroMark Q24“ programinės įrangos AQ režimu.
4. Meniu „Reports“ pasirinkite „AQ Add On Reports / GIST“ (1 pav.).



1 pav. Užbaigto „GIST RapidScreen“ tyrimo mutacijų analizė, naudojant „GIST RapidScreen Pyro“ priedą.

5. Automatiškai analizuojami visų 1 lentelėje nurodytų mutacijų šulinėliai. KIT 9 egzono ir PDGFRA 18 egzono tyrimo rezultatai bus pateikiami apžvalginėje lentelėje (2 pav.), po kuria pateikiami išsamūs „Pyrograms®“ kreivių ir analizės kokybės rezultatai.

**Svarbu:** priedas parodo mutaciją (1 lentelė), kurios numatomas signalas geriausiai atitinka stebimą „Pyrogram“ kreivę.

1 lentelė. „GIST RapidScreen Pyro“ priedo atlikta mutacijų analizė

Nukleino rūgšties pakaitalas	Aminorūgšties pakaitalas	LOB (% vienetai)	LOD (% vienetai)	COSMIC ID* (V70)
<b>KIT 9 egzonas</b>				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
<b>PDGFRA 18 egzonas</b>				
2525A>T	D842V	0,6	3,6	736
2524G>T	D842Y <sup>§</sup>	0,6	3,6	12396
2524_2535 del12 arba <sup>†</sup> 2526_2537	del12 D842_H845del arba <sup>†</sup> I843_D846del <sup>§</sup>	2,2	5,2	737 arba <sup>†</sup> 96892
2527_2538 del12	I843_D846del <sup>§</sup>	3,0	6,0	12400
2528_2539 del12	I843_S847>T	4,2	7,2	12407
2530_2541 del12	M844_S847del	3,2	6,2	12402
2524_2532 del9	D842_M844del	1,5	4,5	12401
2524_2526 delGAC	D842del	0,9	3,9	12406
2526_2538 >G <sup>‡</sup>	D842_D846>E	0,3	3,3	12408
2524_2526 GAC>TAT	D842Y <sup>§</sup>	0,9	3,9	12397

\* Iš „Catalogue of Somatic Mutations in Cancer“ (Somatinių vėžio mutacijų katalogo), kurį galima rasti „Sanger“ instituto svetainėje [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic).

<sup>†</sup> Mutacijos 2524\_2535del12 ir 2526\_2537del12 sukelia tokį patį nukleino rūgščių pokytį.

<sup>‡</sup> Mutacijų 2526\_2538 >G ir 2524\_2526GAC>TAT negalima analizuoti „PyroMark Q24“ programinės įrangos AQ režimu.

<sup>§</sup> Mutacijos 2524G>T ir 2524\_2526 GAC>TAT bei 2526\_2537 del12 ir 2527\_2538 del12 (atitinkamai) sukelia tokį patį aminorūgščių pokytį.

## Summary

Well	Assay Name	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	cKIT Exon 9	COL04237	No mutation detected				
A2	cKIT Exon 9	COL04238	Mutation	51.6	1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	
A3	cKIT Exon 9	COL04239	Mutation	29.6	1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	
A4	cKIT Exon 9	COL04240	No mutation detected				
A5	cKIT Exon 9	wt control DNA	No mutation detected				
A8	cKIT Exon 9		Failed Analysis				⚠
C1	PDGFRA Exon 18	COL04237	No mutation detected				
C2	PDGFRA Exon 18	COL04238	Potential low level mutation	4.5	2525A>T	D842V	⚠
C3	PDGFRA Exon 18	COL04239	No mutation detected				
C4	PDGFRA Exon 18	COL04240	Mutation	52.2	2524_2535del12 or 2526_2537del12	D842_H845del or I843_D846del	
C5	PDGFRA Exon 18	wt control DNA	No mutation detected				
C8	PDGFRA Exon 18		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.

2 pav. „GIST RapidScreen Pyro“ priedo analizės rezultatų suvestinės pavyzdys.

## Rezultatų aiškinimas ir žemo lygio mutacijų aptikimas

Primygtinai rekomenduojame palyginimui ir foninių lygių kontrolei į kiekvieną tyrimą įtraukti laukinio tipo mėginį.

**Svarbu:** įspėjimus „Check“ (patikrinkite) arba „Failed“ (nepavyko) kokybės įvertinimą gali sukelti nenumatytas viršūnių modelis. Tai gali rodyti nenumatytą mutaciją, kurios priedo ataskaita neanalizuoja. Šiuos mėginius reikia analizuoti rankiniu būdu, naudojant „PyroMark Q24“ programinę įrangą, atsižvelgiant į tai, kad juose gali būti nenumatytų mutacijų. Išsami informacija pateikiama „*therascreen GIST RapidScreen Pyro*“ rinkinio vadove.

**Svarbu:** „Pyrogram“ kreivė turi būti visada lyginama su histograma, kuri rodoma išsamiauose priedo ataskaitos rezultatuose ir gali būti pateikiama „PyroMark Q24“ programinėje įrangoje, dešiniuoju pelės mygtuku spustelėjus „Pyrogram“ langą. Reikia patikrinti, ar „Pyrogram“ kreivėje nėra nenumatytų viršūnių. Jei išmatuotos viršūnės neatitinka histogramos stulpelių aukščio ir to negalima paaiškinti retomis ar nenumatytomis mutacijomis, rezultatu negalima remtis vertinant mutacijos būseną. Rekomenduojama pakartotinai ištirti mėginį.

**Svarbu:** mėginiai, kuriuose gali būti žemo lygio mutacija (dažnis intervale nuo LOD iki LOD + 3 % vienetų), turi būti ištirti antrąkart testuojant pakartotinai kartu su nemetilintos kontrolinės DNR mėginiu. Tokiu atveju bus rodomas įspėjimas. Laikoma, kad mėginio mutacija tinkama, jei abu tyrimai patvirtina pradinės analizės rezultatą ir aiškiai skiriasi nuo įprasto kontrolinio mėginio. Priešingu atveju mėginys turi būti vertinamas kaip laukinio tipo.

**Svarbu:** norint nuodugniau ištirti mėginius, kuriuose gali būti žemo lygio mutacija, rekomenduojame papildomai ištirti mėginį rankiniu būdu, naudojant „PyroMark Q24“ programinę įrangą, pvz., mutacijų dažniui kontroliniame mėginyje palyginti (išsamių instrukcijų ieškokite atitinkamame protokole). Jei kontroliniame mėginyje išmatuotas dažnis viršija LOB, tai rodo didesnę nei įprastai foninį lygį atitinkamame tyrime, kuris gali turėti įtakos alelių kiekybiniam vertinimui, ypač esant žemo lygio mutacijoms. Tokiu atveju galimomis žemo lygio mutacijomis negalima remtis vertinant mutacijos būseną, ir rekomenduojama pakartotinai ištirti mėginius, kuriuose gali būti žemo lygio mutacija.

Norėdami gauti naujausios informacijos apie licencijavimą ir atsakomybės už produktus apribojimus, žr. atitinkamą QIAGEN® rinkinio vadovą arba naudotojo vadovą. QIAGEN rinkinio vadovai arba naudotojo vadovai pateikti adresu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) arba galite jų paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: QIAGEN®, „Sample to Insight™“, „Pyro™“, „Pyrogram™“, „PyroMark™“, „therascreen™“ (QIAGEN grupė); „Windows®“ („Microsoft Corporation“).  
1106190 02/2017 © 2017 QIAGEN, visos teisės saugomos. PROM-8092-002

Užsakymas [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Techninė pagalba [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Interneto svetainė [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)