

2017. február

EGFR Pyro[®] beépülő modul Rövid útmutató

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

Az EGFR Pyro beépülő modul bemutatása

Az EGFR Pyro beépülő modul csomagja a következőket tartalmazza:

- *EGFR Pyro beépülő modul – Rövid útmutató*
- Két telepítőfájl
- Referenciajelentés az EGFR Pyro beépülő modul működésének ellenőrzésére

Megjegyzés: Az EGFR Pyro beépülő modul kizárólag az EGFR Pyro kitekkel, az EGFR Pyro kitek kézikönyvében ismertetett alkalmazási területeken használható.

Az EGFR Pyro beépülő modul telepítése

Fontos: Az EGFR 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 párbeszédpaneelen látható utasításokat.
5. Indítsa el a 2.0-s PyroMark Q24 szoftvert. Az indítást követően AQ módban megjelennek az EGFR Pyro beépülő modul jelentései a „Reports” (Jelentések) menü „AQ Add On Reports/EGFR” (AQ bővítmény jelentései / EGFR) menüpontjában.
6. Ellenőrizze a beépülő modul működését (lásd alább „Az EGFR Pyro beépülő modul működésének ellenőrzése” című részt).

Az EGFR 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.

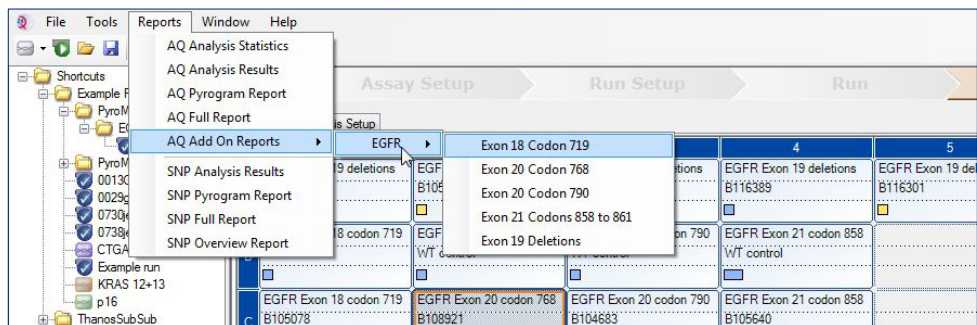
1. A hivatkozásokat tartalmazó böngészőfelületen nyissa meg a „Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR” (Hivatkozások/Mintafájlok/PyroMark futtatások/EGFR) mappastruktúrát követve az „EGFR Example” (EGFR teszt) futtatást.
2. Végezze el az „EGFR Exon 19 Deletions” (EGFR – 19. exondeléciók) elemzést 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 az EGFR Pyro beépülő modul megfelelően működik.

A PyroMark Q24 futtatás elemzése

A következő lépések egy befejezett EGFR futtatás mutációelemzését ismertetik az EGFR beépülő modul jelentésének 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.
3. A PyroMark Q24 szoftverben AQ módban nyissa meg a futtatási fájlt úgy, hogy a „File” (Fájl) menüben az „Open” (Megnyitás) lehetőséget választja, vagy duplán kattint a fájlra (👉) a hivatkozásokat tartalmazó böngészőfelületen.

4. A „Reports” menüben válassza az „AQ Add On Reports/EGFR” menüpontot, majd az „Exon 18 Codon 719” (18. exon, 719. kodon), az „Exon 20 Codon 768” (20. exon, 768. kodon), az „Exon 20 Codon 790” (20. exon, 790. kodon), az „Exon 21 Codons 858 to 861” (21. exon, 858–861. kodon) vagy az „Exon 19 Deletions” (19. exondelációk) lehetőséget (1. ábra).



1. ábra: Befejezett EGFR futtatás mutációelemzése az EGFR Pyro beépülő modul használatával

5. A szoftver automatikusan elvégzi az összes mintahely esetében az összes olyan mutáció elemzését, amelynek szerepel az LOD-értéke az 1. táblázatban. A rendszer megjeleníti összefoglaló táblázatban az eredményeket (lásd alább a 2. ábrát), és ez alatt található a Pyrogram® lenyomatokat és az elemzések minőségére vonatkozó adatokat tartalmazó részletes eredmények.

1. táblázat: Az EGFR Pyro beépülő modullal vizsgált mutációk LOB- és LOD-értéke

Mutáció	Aminosavcsere	LOB (% egység)	LOD (% egység)	COSMIC ID* (V70)
19. exondelációk				
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
18. exon, 719. kodon (GGC)				
AGC	G719S	0,9	1,5	6252
TGC	G719C	1,0	1,6	6253
GCC	G719A	4,7	9,1	6239
20. exon, 768. kodon (AGC)				
ATC	S768I	2,6	5,0	6241
20. exon, 790. kodon (ACG)				
ATG	T790M	7,0	10,7	6240
21. exon, 858. kodon (CTG)				
CGG	L858R	0,6	2,6 (5,5) [†]	6224
21. exon, 861. kodon (CTG)				

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

* 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 \geq LOD gyakoriságot eredményező legalacsonyabb mutációérték a mintában.

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.

2. ábra: Példa az EGFR Pyro beépülő modulul 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 csúcsmintázat okozhatja. Ez jelezhet egy olyan váratlan mutációt, amely nem szerepel a beépülő modul jelentéséhez végzett elemzésben. A minták elemzését manuálisan, a PyroMark Q24 szoftver használatával kell elvégezni, figyelembe véve azt, hogy nem várt mutációkat tartalmaznak. Erre vonatkozóan részleteket a megfelelő EGFR 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 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).
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva. PROM-8091-003

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