
Februari 2017

EGFR Pyro[®] Plug-in Snabbstartsguide

För installering och användning med PyroMark[®]
Q24-instrument och Pyromark Q24
programvaruversion 2.0

Om EGFR Pyro Plug-in

EGFR Pyro Plug-in paketet innehåller följande:

- *EGFR Pyro Plug-in Snabbstartsguide*
- Två installationsfiler
- Referensrapport för funktionsverifiering av EGFR Pyro Plug-in

Obs: EGFR Pyro Plug-in är endast avsett att användas i kombination med de EGFR Pyro-kit som är indikerade för de applikationer som beskrivs i EGFR Pyro-kittens respektive handböcker.

Installering av EGFR Pyro Plug-in

Viktigt: EGFR Pyro Plug-in måste installeras på **PyroMark Q24-instrument med PyroMark Q24 programvaruversion 2.0.**

1. Stäng programmet Pyromark Q24 2.0 om det är öppet.
2. Öppna *.zip-installationsfilen och extrahera filerna.
3. Dubbelklicka på filen setup.exe.
4. Följ instruktionerna i de dialogrutor som visas.
5. Starta programmet Pyromark Q24 2.0. EGFR Pyro Plug-in-rapporten syns nu under "AQ Add On Reports/EGFR" (AQ-tilläggsrapporter/EGFR) i menyn "Reports" (rapporter) i AQ-läge.
6. Verifiera Plug-in-funktion (se "Verifiera EGFR Pyro Plug-in-funktion" nedan").

Verifiera EGFR Pyro Plug-in-funktion

Viktigt: Verifieringen bör utföras varje gång ny programvara installeras eller uppgraderas på datorn.

Följande steg beskriver hur man verifierar att programvaran fungerar korrekt och inte har påverkats av några förändringar på datorn.

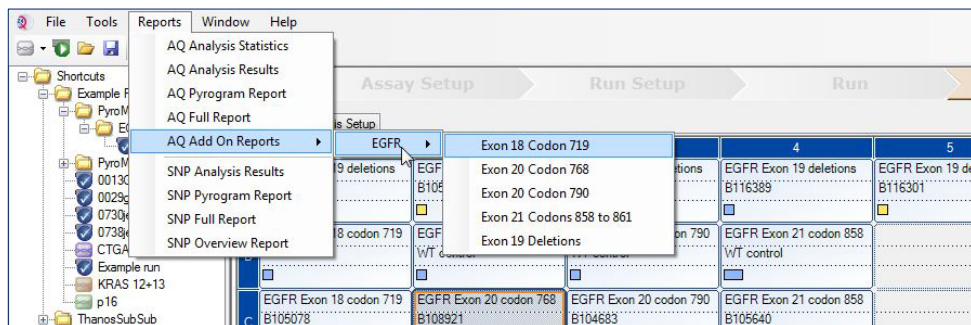
1. Öppna EGFR Example run (EGFR exempelkörning) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/EGFR" (genvägar/exempelfiler/PyroMark-körningar/EGFR) i snabbmenyn.
2. Gör en "EGFR exon 19-deletionsanalys" för alla brunnar såsom beskrivs i "Analysera en PyroMark Q24-körning" nedan.
3. Jämför resultaten med referensrapporten. Om resultaten är identiska är korrekt funktion av EGFR Pyro Plug-in bekräftad.

Analysera en PyroMark Q24-körning

Följande steg beskriver mutationsanalysen av en avslutad EGFR-körning med EGFR Plug-in-rapporten.

1. Sätt i USB-minnet (med den behandlade körfilen) i datorns USB-port.
2. Flytta körfilen från USB-minnet till önskad plats på datorn med hjälp av Windows® Explorer (utforskaren).
3. Öppna körfilen i AQ-läget i programmet PyroMark Q24 genom att antingen välja "Open" (öppna) i menyn "File" (arkiv) eller genom att dubbelklicka på filen (📁) i snabbmenyn.

4. Välj "AQ Add On Reports/EGFR" (AQ-tilläggsrapporter/EGFR) och "Exon 18 Codon 719" (exon 18 kodon 719), "Exon 20 Codon 768" (exon 20 kodon 768), "Exon 20 Codon 790" (exon 21 kodon 790), "Exon 21 Codons 858 till 861" (exon 20 kodon 858 till 861) eller "Exon 19 Deletions" (exon 19 deletioner) i menyn "Reports" (figur 1).



Figur 1. Mutationsanalys av en avslutad EGFR-körning med EGFR Pyro Plug-in.

5. Brunnarna analyseras automatiskt vad gäller alla mutationer för vilka LOD anges i tabell 1. Resultaten visas i en översiktstabell (se exempel i figur 2 nedan), som följs av detaljerade resultat som innefattar Pyrogram® och analyskvalitet.

Tabell 1. LOB och LOD fastställda för specifika mutationer med EGFR Pyro Plug-in

Mutation	Aminosyrasubstitution	LOB (%-enheter)	LOD (%-enheter)	COSMIC ID* (V70)
Exon 19 deletioner				
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

Mutation	Aminosyrasubstitution	LOB (%-enheter)	LOD (%-enheter)	COSMIC ID* (V70)
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

* Från Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (katalog över somatiska mutationer i cancer) som finns tillgänglig online på Sanger Institutes hemsida på adressen www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

[†] Lägsta mutationsfrekvens i ett prov som resulterade i en uppmätt frekvens \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.

Figur 2. Exempel på en resultatsammanfattning från en EGFR Pyro Plug-in-analys.

Tolkning av resultat och detektion av lågfrekventa mutationer

Vi rekommenderar att ett vildtyprov inkluderas i varje körning, för jämförelse och som kontroll för bakgrunds nivåer.

Viktigt: En kvalitetsbedömning med resultatet "Check" (kontrollera) eller "Failed" (misslyckad) kan orsakas av ett oväntat mönster av toppar. Detta kan indikera en oväntad mutation som inte analyseras av Plug-in-rapporten. Dessa prover bör analyseras manuellt med programmet PyroMark Q24 där hänsyn ska tas till oväntade mutationer. För mer information, se lämplig handbok för EGFR Pyro Kit.

Viktigt: Pyrogrammet bör alltid jämföras med histogrammet, vilket visas i de detaljerade resultaten från Plug-in-rapporten och som även kan ses i programmet Pyromark Q24 genom att högerklicka i pyrogramfönstret. Pyrogrammet bör undersökas för att se om det innehåller oväntade toppar. Om de uppmätta topparna inte stämmer överens med höjden på histogramstaplarna och inte kan förklaras av sällsynta eller oväntade mutationer är resultatet inte en grund för bedömning av mutationsstatus. Vi rekommenderar att provet körs om.

Viktigt: Prover med en rapporterad potentiell lågfrekvent mutation (frekvensintervall från LOD till LOD +3 %-enheter) bör köras om i duplikat tillsammans med ett prov med ometylerat kontroll-DNA. En varning kommer att utfärdas i sådant fall.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen för respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar för QIAGEN-kit finns tillgängliga på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska support eller från din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (QIAGEN-gruppen); Windows® (Microsoft Corporation).
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt. PROM-8091-003.

Beställning www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com