

2016 vasaris

# „KRAS 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 „KRAS Pyro“ priedą

„KRAS Pyro“ priedo pakuotėje yra:

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

**Pastaba:** „KRAS Pyro“ priedas skirtas naudoti tik kartu su specialiaisiais „KRAS Pyro“ ir „RAS Extension Pyro“ rinkiniais, kurių paskirtis aprašyta atitinkamuose „KRAS Pyro“ ir „RAS Extension Pyro“ rinkinių vadovuose.

## „KRAS Pyro“ priedo diegimas

**Svarbu:** „KRAS Pyro“ priedas turi būti diegiamas „PyroMark Q24“ instrumentuose kartu su „PyroMark Q24“ 2.0 versijos programine įranga.

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

## „KRAS 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.

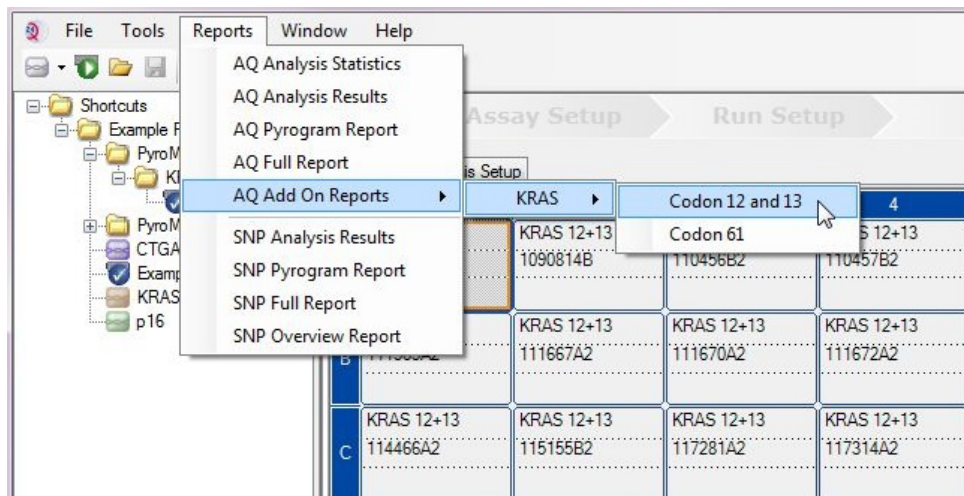
1. Atidarykite „KRAS Example“ (KRAS pavyzdys) nuorodų naršyklėje pasirinkę „Shortcuts / Example Files / PyroMark Runs / KRAS“ (nuorodos / failų pavyzdžiai / „PyroMark“ tyrimai / KRAS).
2. Atlikite visų šulinėlių „KRAS codon 12 and 13“ (KRAS 12 ir 13 kodono) analizę, kaip aprašyta tolesniame skyrelyje „PyroMark Q24 tyrimo analizė“.
3. Palyginkite rezultatus su nurodine ataskaita. Jei rezultatai sutampa, priedo funkcijos veikia tinkamai.

## „PyroMark Q24“ tyrimo analizė

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

1. Įstatykite USB atmintinę su apdorotu tyrimo failu į kompiuterio USB jungtį.
2. Naudodami „Windows® Explorer“ perkelkite 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 / KRAS“ ir „Codon 12 and 13“ (12 ir 13 kodonai) arba „Codon 61“ (61 kodonas) (1 pav.).



1 pav. Užbaigto KRAS 12 ir 13 kodonų tyrimo mutacijų analizė, naudojant „KRAS Pyro“ priedą.

5. Automatiškai analizuojami visų 1 lentelėje nurodytų mutacijų šulinėliai. Rezultatai bus pateikiami apžvalginėje lentelėje (2 pav.), po kuria pateikiami išsamūs „Pyrograms®“ kreivų ir analizės kokybės rezultatai.

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


1 lentelė. „KRAS Pyro“ priedo atlikta mutacijų analizė

Nukleino rūgšties pakaitalas	Aminorūgšties pakaitalas	LOB (% vienetai)	LOD (% vienetai)	COSMIC ID* (V72)
<b>12 kodonas (GGT)</b>				
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
<b>13 kodonas (GGC)</b>				
GAC	G13D	0,3	1,9	532
<b>61 kodonas (CAA), kai tiriama atvirkštinė tvarka (TTG)</b>				
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

\* 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).

## 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	
B8	113200A1	Wildtype				
C1	114466A2	Wildtype				

2 pav. „KRAS Pyro“ priedo analizės rezultatų suvestinės pavyzdys.

## Rezultatų aiškinimas ir žemo lygio mutacijų aptikimas

Primitytinai 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 „KRAS Pyro“ arba „RAS Extension Pyro“ rinkinio vadove.

**Svarbu:** „Pyrogram“ kreivė turi būti visada lyginama su histograma, kuri rodoma išsamiuose priedo ataskaitos rezultatuose ir gali būti pateikiama „PyroMark Q24“ programinėje įrangoje, dešiniojo 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 antrą kartą testuojant pakartotinai kartu su nemetiltos 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 skyrelyje „6 protokolai: „PyroMark Q24“ tyrimo analizė“ atitinkame „RAS Extension Pyro“ rinkinio vadove). 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® (QIAGEN grupė); Windows® (Microsoft Corporation).  
1106192 02/2017 © 2017 QIAGEN, visos teisės saugomos. PROM-8151-003

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)