

Februar 2017

Lynvejledning til GIST RapidScreen Pyro[®] Plug-in

Til installation og anvendelse med PyroMark[®]
Q24-instrumenter og PyroMark Q24-
softwareversion 2.0

Om GIST RapidScreen Pyro Plug-in

GIST RapidScreen Pyro Plug-in-pakken indeholder følgende:

- *Lynvejledning til GIST RapidScreen Pyro*
- To installationsfiler
- Referencerapport for funktionsbekræftelse for GIST RapidScreen Plug-in

Bemærk: GIST RapidScreen Pyro Plug-in er beregnet til anvendelse udelukkende i kombination med det dedikerede *therascreen*[®] GIST RapidScreen Pyro-kit (katalognr. 971510), der er indiceret til de anvendelser, der er beskrevet i håndbogen til *therascreen GIST RapidScreen Pyro-kittet* (*therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook*).

Installation af GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Vigtigt: GIST RapidScreen Pyro Plug-in skal installeres på enten **PyroMark Q24-instrumentet med PyroMark Q24-softwareversion 2.0** eller **PyroMark Q24 MDx-instrumentet med PyroMark Q24 MDx-softwareversion 2.0**

Luk PyroMark Q24-software 2.0, hvis den er åben.

1. Åbn *.zip-installationsfilen, og udpak filerne.
2. Dobbeltklik på setup.exe-filen.
3. Følg instruktionerne i de dialogbokse, der vises.
4. Start PyroMark Q24-software 2.0. GIST RapidScreen Pyro Plug-in Report vises nu under "AQ Add On Reports/GIST" (AQ-tilføjelsesrapporter/GIST) i menuen "Reports" (Rapporter) i AQ-tilstand.

5. Bekræft funktionaliteten for GIST RapidScreen Plug-in (se "Bekræftelse af funktionaliteten for GIST RapidScreen Plug-in herunder").

Bekræftelse af funktionalitet for GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Vigtigt: Bekræftelsen skal foretages, hver gang der installeres ny software eller foretages opgraderinger på computeren.

Følgende trin beskriver, hvordan det bekræftes, at softwaren fungerer korrekt og ikke er påvirket af ændringer på computeren.

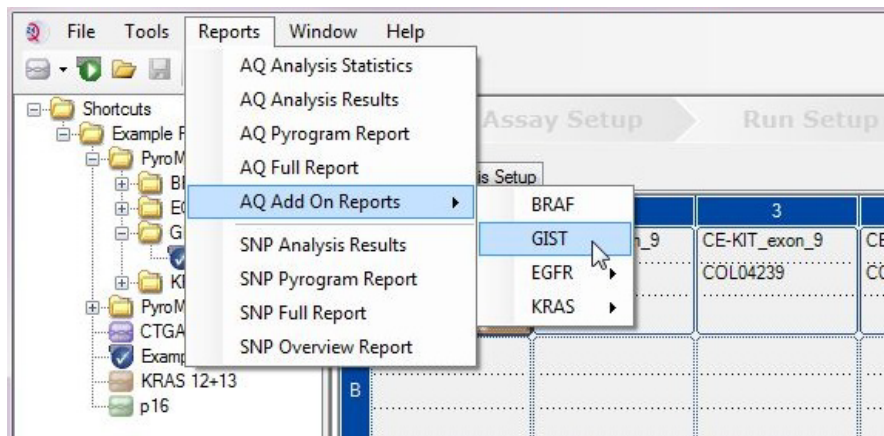
6. Åbn kørslen af "GIST Example" (GIST-eksempel) under "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/GIST" (Genveje/Eksempelfiler/PyroMark-kørsler/GIST) i genvejsbrowseren.
7. Foretag en analyse af "GIST" for alle brønde som beskrevet i "Analyse af en PyroMark Q24-kørsel" herunder.
8. Sammenlign resultaterne med referencerapporten. Hvis resultaterne er identiske, bekræftes korrekt funktion af plugin'et.

Analyse af en PyroMark Q24-kørsel

Følgende trin beskriver mutationsanalysen for en afsluttet GIST-kørsel ved hjælp af GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

1. Sæt USB-nøglen med den behandlede kørselsfil i USB-porten på computeren.
2. Flyt kørselsfilen fra USB-nøglen til den ønskede placering på computeren ved hjælp af Windows® Stifinder.

3. Åbn kørselsfilen i AQ-tilstand i PyroMark Q24-softwaren ved enten at vælge "Open" (Åbn) i menuen "File" (Filer) eller dobbeltklikke på filen (☑) i genvejsbrowseren.
4. Vælg "AQ Add On Reports/GIST" i menuen "Reports" (Figur 1).



Figur 1. Mutationsanalyse for en afsluttet GIST RapidScreen-kørsel ved hjælp af GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

5. Brøndene analyseres automatisk for samtlige mutationer, der er angivet i Tabel 1. Resultaterne for både KIT exon 9- og PDGFRA exon 18-analysen præsenteres i en oversigtstabel (Figur 2) efterfulgt af de detaljerede resultater, som inkluderer Pyrograms® og analysekvalitet.

Vigtigt: Plugin'et vil rapportere den mutation (Tabel 1), hvis forventede signal svarer bedst til det observerede pyrogram.

Tabel 1. Mutationer analyseres i GIST RapidScreen Pyro Plug-in

Nukleinsyresubstitution	Aminosyresubstitution	LOB (procentenheder)	LOD (procentenheder)	COSMIC-id* (V70)
KIT exon 9				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
PDGFRA exon 18				
2525A>T	D842V	0,6	3,6	736
2524G>T	D842Y [§]	0,6	3,6	12396
2524_2535 del12 eller [†] 2526_2537	del12 D842_H845del eller [†] I843_D846del [§]	2,2	5,2	737 eller [†] 96892
2527_2538 del12	I843_D846del [§]	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 [†]	D842_D846>E	0,3	3,3	12408
2524_2526 GAC>TAT	D842Y [§]	0,9	3,9	12397

* Fra Catalogue of Somatic Mutations in Cancer, der er tilgængeligt online på Sanger Institutes websted på www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

[†] Mutationerne 2524_2535del12 og 2526_2537del12 resulterer i samme nukleinsyreændring.

[†] Mutationerne 2526_2538 >G og 2524_2526GAC>TAT kan ikke analyseres i AQ-tilstand i PyroMark Q24-softwaren.

[§] Mutationerne 2524G>T og 2524_2526 GAC>TAT og 2526_2537 del12 og 2527_2538 del12 resulterer i henholdsvis samme aminosyreændring.

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.

Figur 2. Oversigt over eksempelresultater fra en analyse af GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

Fortolkning af resultater og påvisning af mutationer med lavt niveau

Det anbefales på det kraftigste at medtage en vildtypeprøve i hver enkelt kørsel til sammenligning og kontrol af baggrunds niveauer.

Vigtigt: Hvis kvalitetsvurderingen ender med "Check" (Kontrollér) eller "Failed" (Ikke godkendt), kan det skyldes et uventet spidsmønster. Dette kan indikere en uventet mutation, der ikke analyseres i Plug-in Report. Sådanne prøver skal analyseres manuelt ved hjælp af PyroMark Q24-softwaren med hensyntagen til, at de kan indeholde uventede mutationer. Der står flere oplysninger i håndbogen til *therascreen GIST RapidScreen Pyro-kit*.

Vigtigt: Pyrogrammet skal altid sammenlignes med histogrammet, som vises i de detaljerede resultater af Plug-in Report og kan vises i PyroMark Q24-softwaren ved at højreklikke i pyrogramvinduet. Pyrogrammet skal undersøges for forekomsten af uventede spidser. I tilfælde af at de målte spidser ikke svarer til højden af søjlerne i histogrammet, og dette ikke kan forklares med sjældne eller uventede mutationer, kan resultatet ikke bruges som basis for en vurdering af mutationsstatus. Det anbefales at køre prøven igen.

Vigtigt: Prøver med en rapporteret potentiel lavniveaumutation (hyppighed i området fra LOD til LOD + 3 %-enheder) skal omkøres i duplikeret form sammen med en prøve med umethyleret kontrol-DNA. I dette tilfælde vises en advarsel. Prøven må kun betragtes som positiv for mutationen, hvis begge duplikater bekræfter resultatet af den originale analyse og er synligt forskellig fra den normale kontrol. I modsat fald skal prøven vurderes som vildtype.

Vigtigt: Med henblik på en nærmere undersøgelse af prøver med en rapporteret, potentiel lavniveaumutation anbefaler vi, at prøven yderligere analyseres manuelt i PyroMark Q24-softwaren, f.eks. for at sammenligne med kontrolprøvens mutationshyppighed (se flere instruktioner i den tilsvarende protokol). En målt hyppighed over LOB i kontrolprøven antyder et højere baggrundsniveau end normalt i den tilsvarende kørsel, hvilket kan påvirke allelekvantificeringen især i tilfælde af lave mutationsniveauer. I dette tilfælde er rapporterede potentielle lavniveaumutationer ikke basis for vurdering af mutationsstatus, og det anbefales at genkøre prøver med en potentiel lavniveaumutation.

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugervejledning til QIAGEN®-kittet. Håndbøger og brugervejledninger til QIAGEN-kittet findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark®, *therascreen*® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation). 1106190 02/2017 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes. PROM-8092-002

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk service support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com